EMC

■ 90-45-0240-A

Suivi thérapeutique pharmacologique du tacrolimus

É.-M. Billaud, P. Marquet, F. Saint-Marcoux

Le tacrolimus est un immunosuppresseur inhibiteur de la calcineurine (ICN) indiqué principalement dans la prévention du rejet du greffon chez les transplantés hépatiques, rénaux ou cardiaques. Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) est obligatoire et justifié par une zone thérapeutique étroite, une variabilité interindividuelle importante, de nombreuses interactions médicamenteuses, avec des conséquences cliniques potentiellement graves et des relations concentration-effet thérapeutique et concentration-effets toxiques démontrées (en particulier, la néphrotoxicité et la neurotoxicité sont concentration-dépendantes). Le dosage est effectué dans le sang total, prélevé dans un tube sans gel séparateur contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique, majoritairement par technique liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry *(LC-MS/MS), même si des techniques immunologiques de divers types – notamment* chemiluminescent microparticle immunoassay *(CMIA) sur Architect,* enzyme multiplied immunoassay technique *(EMIT), test immunologique par électrochimiluminescence (ECLIA),* antibody conjugated magnetic immunoassay *(ACMIA), QMS® – persistent. Ces méthodes immunologiques présentent des réactivités croisées variables avec certains des métabolites du tacrolimus, mais leurs résultats sont cohérents avec ceux obtenus en LC-MS/MS. Le STP repose sur la concentration résiduelle de tacrolimus (C0), avec des zones thérapeutiques variant en fonction de la période de prescription : chez l'adulte, 10 à 15 ng/ml dans le premier mois post-greffe, puis 5 à 10 ng/ml sans dépasser 20 ng/ml ; chez l'enfant, 10 à 20 puis 5 à 15 ng/ml. Cependant, la tendance actuelle est à la minimisation des ICN et les concentrations cibles de tacrolimus peuvent être beaucoup plus faibles, inférieures à 5 ng/ml, notamment en transplantation hépatique.*

Mots-clés : Tacrolimus ; Suivi thérapeutique pharmacologique ; Transplantation

Plan

■ Présentation

Identification

Les caractéristiques sont les suivantes :

- dénomination commune internationale (DCI) : tacrolimus ;
- classe chimique : macrolide, issu de *Streptomyces tsukubaensis* ;
- classe pharmacothérapeutique : immunosuppresseur ;
- nom de spécialité : Prograf®, Advagraf®, Modigraf® (laboratoire Astellas), Adoport® (Sandoz), Envarsus® (Chiesi) ;
- formule moléculaire : $C_{44}H_{69}NO_{12}$, H_2O ;
- poids moléculaire (PM) : 822 Da ;
- très forte liposolubilité.

Formes galéniques. Voies et modes d'administration

Voie orale

On dispose de :

- gélules à libération immédiate à 0,5, 1 et 5 mg (Prograf® et Adoport®) ;

- gélules à libération prolongée à 0,5, 1, 3 et 5 mg (Advagraf®) ;
- gélules à libération prolongée à 0,75, 1 et 4 mg (Envarsus®) ;
- granulés pour suspension buvable à 0,2 et 1 mg (Modigraf®).

Voie parentérale

On utilise des ampoules à 5 mg à administrer en perfusion continue ou en perfusion de trois heures, nécessitant une dilution importante du produit et des tubulures particulières. Il s'agit d'une voie délicate à utiliser.

Indications

Le tacrolimus est indiqué pour la prévention du rejet du greffon chez les transplantés hépatiques, rénaux ou cardiaques ainsi que pour le traitement du rejet de l'allogreffe résistant à un traitement par d'autres médicaments immunosuppresseurs.

Posologie et périodicité d'administration

Deux possibilités se présentent :
- voie orale : 0,1 à 0,3 mg/kg par jour en une (formes à libération prolongée) ou deux prises, strictement à jeun, une heure avant ou deux heures après le repas ;
- voie intraveineuse, en perfusion continue et jamais en bolus : 0,01 à 0,03 mg/kg par jour (perfusion continue), avec un maximum de 1 mg/j pour un maximum de sept jours. Suivi thérapeutique pharmacologique (STP) dans les 24 à 48 heures.

Justification du suivi thérapeutique pharmacologique

- Le niveau de recommandation est spécifié dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) de l'autorisation de mise sur le marché (AMM).
- Concernant l'efficacité/tolérance, il s'agit d'un médicament immunosuppresseur puissant, néphrotoxique, neurotoxique, diabétogène.
- On note une grande variabilité pharmacocinétique interindividuelle, avec une absorption faible et un métabolisme important et variable par les CYP3A. Il existe une forte influence d'un polymorphisme génétique du CYP3A5 (*3), plus faible d'un polymorphisme du CYP3A4 (*22).
- Les interactions médicamenteuses sont nombreuses, et potentiellement graves en termes d'augmentation de la toxicité ou de diminution d'efficacité.
- Un risque de surimmunosuppression peut favoriser et entretenir des infections ou des processus prolifératifs.

Il existe également une forte variabilité intra-individuelle sur les 3 à 6 premiers mois post-transplantation, qui traduit la diminution progressive de la clairance orale du tacrolimus, dont l'origine semble multifactorielle et qui nécessite une diminution des doses encore plus rapide que la diminution des concentrations résiduelles cibles dans cette période. Cette variabilité intra-individuelle ne diminue pas l'intérêt du STP, dont l'échelle de temps est plus courte.

■ Pharmacocinétique (Tableau 1)

La biodisponibilité orale est faible (10–20 %) du fait d'un efflux par la glycoprotéine P (Pgp) intestinale et d'un métabolisme présystémique par les CYP3A intestinaux et hépatiques. Le rapport des concentrations traduit une forte incorporation du tacrolimus aux globules rouges. Dans le plasma, le tacrolimus est lié à l'albumine et à l'alpha1-glycoprotéine.

L'excrétion des métabolites est biliaire, donnant lieu à un cycle entérohépatique.

Tableau 1.
Principaux paramètres pharmacocinétiques du tacrolimus.

Biodisponibilité	Très variable, moyenne 25 % (5–43 %)
Tmax : - formes à libération immédiate - forme à libération prolongée Advagraf® - forme à libération prolongée Envarsus®	 Moyenne 2 h (0,5–6 h) Moyenne 2 h (1–6 h) Moyenne 6 h (1–16 h)
Liaison protéique	77 à 99 % selon les études
Rapport concentration sang/plasma	Moyenne 15–35
Volume apparent de distribution	1 à 2 l/kg
Demi-vie d'élimination	4–41 h (moyenne 12 h)
Clairance totale	30–90 ml/h/kg

Facteurs influençants documentés et modalités de prise en charge

La nourriture a une influence majeure sur l'absorption du produit, justifiant une administration décalée par rapport aux repas. Cependant, d'autres modalités favorisant l'adhésion du patient au traitement sont envisageables, à condition d'être parfaitement reproduites dans le temps.

Une insuffisance hépatique doit être prise en compte, notamment si elle est sévère.

Interactions médicamenteuses pharmacocinétiques

Elles sont globalement superposables à celles de la ciclosporine, en raison de la similitude des mécanismes d'absorption et de métabolisme (Pgp et CYP450 3A) ; toutefois, l'intensité développée est deux à trois fois plus importante avec le tacrolimus qu'avec la ciclosporine. Pour autant, il n'est pas possible, à la différence de la ciclosporine, de préciser avec certitude les effets néphrotoxiques d'un surdosage de tacrolimus à très court terme. Pour cette raison, le signe le plus précoce d'un surdosage au tacrolimus est la mesure de concentration sanguine, les signes cliniques de toxicité, notamment l'augmentation de la créatininémie, ne pouvant apparaître qu'après un certain temps de surexposition.

Les médicaments diminuant les concentrations sanguines de tacrolimus sont essentiellement la rifampicine, le phénobarbital et la phénytoïne.

Les médicaments augmentant les concentrations sanguines de tacrolimus sont :
- les macrolides : érythromycine, josamycine, roxithromycine, pristinamycine ;
- les antifongiques imidazolés : itraconazole, voriconazole, posaconazole, fluconazole ;
- les inhibiteurs calciques : diltiazem, nicardipine, nifédipine, isradipine ;
- les inhibiteurs de la protéase du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) : antirétroviraux boostés – antiprotéases (ritonavir) elvitégravir (cobicistat).

Par ailleurs, en raison de l'absence d'interaction du tacrolimus sur l'absorption du mycophénolate, la combinaison mycophénolate-tacrolimus induit une exposition au mycophénolate environ 20 % plus forte qu'avec la ciclosporine, ce qui est à prendre en compte dans l'évaluation de l'immunosuppression globale, en plus de la plus forte puissance du tacrolimus.

Cas particulier : le relais ciclosporine-tacrolimus. Il est préférable de créer une fenêtre thérapeutique d'au moins 24 heures en raison de l'existence d'une interaction médicamenteuse pharmacodynamique et pharmacocinétique entre ces deux produits, dont l'association est par ailleurs contre-indiquée (néphrotoxicité + immunosuppression).

■ Conditions préanalytiques

Prélèvement, transport, conservation

Les conditions suivantes sont requises :

- nature : sang total ;
- contenant : tubes de 2, 3 ou 5 ml, sans séparateur, contenant de l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) ; 200 µl de sang total sont nécessaires pour le dosage ;
- date et heure particulières où le(s) prélèvement(s) doit (vent) être fait(s) : prélèvement juste avant l'administration (concentration résiduelle), éventuellement deux heures après dans le cas de l'exploration d'un sous-dosage important. Fréquence régulière, pendant toute la durée du traitement ;
- renseignements cliniques à fournir (cf. notamment les référentiels SH REF 02 et la norme 15189 V2012) : nature et date de la transplantation, date de mise sous traitement, posologie, poids, créatininémie, coprescriptions à risque d'interactions médicamenteuses ;
- acheminement du prélèvement :
  - conditions de température : température ambiante (éviter le réfrigérateur),
  - protection de la lumière : pas nécessaire ;
- prétraitement éventuellement nécessaire et conservation préanalytique : congélation à -20 °C possible mais inutile si l'analyse est réalisée dans les sept jours suivant le prélèvement ;
- délai maximal admissible avant analyse :
  - pour une bonne conservation : sept jours sans congélation,
  - pour l'intérêt clinique : dans les 48 heures au plus.

■ Méthodes analytiques

Nature des substances dosées : tacrolimus dans le sang total.

Méthodes existantes

Ce sont les suivantes :

- méthodes physicochimiques : *liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) ;
- méthodes d'immunoanalyse :
  - *chemiluminescent microparticle immunoassay* (CMIA), Architect (Abbott),
  - test immunologique par électrochimiluminescence ECLIA (Roche),
  - *enzyme multiplied immunoassay technique* (EMIT) 2000 Tacrolimus (Siemens),
  - QMS® (ThermoFisher), etc.

Critères de qualité

Ce sont les suivants :

- spécificité : il existe des réactions croisées avec certains métabolites en immunoanalyse, mais avec peu d'impact sur l'interprétation du résultat – sauf cas rapporté de réactifs défaillants qui ont été retirés du marché ;
- précision nécessaire : limite de détection 0,5 ng/ml ; limite de quantification 1,0 ng/ml ;
- zone de linéarité (par construction) : 1 à 50 ng/ml ;
- précision et justesse nécessaires, en particulier aux seuils de décision : < 15 % (disponibilité actuelle).

Contrôles de qualité

Ce sont les suivants :

- internes : commerciaux, différents fournisseurs disponibles ;
- externe : Laboratory of the Government Chemist (LGC).

■ Interprétation

- Elle est fonction de l'indication, du délai post-transplantation, de l'état clinique et biologique, des coprescriptions d'immunosuppresseurs et d'autres médicaments.
- L'interprétation doit prendre en compte la voie d'administration.
- La concentration-cible ou les zones thérapeutiques doivent tenir compte de la population étudiée et/ou de la méthode employée.

Relation concentration et/ou dose-effet en fonction de l'indication

Paramètres mesurés

En routine, le STP est réalisé sur la base de la concentration résiduelle C0 (juste avant la prise par la voie orale). Toutefois, une conférence de consensus européenne a considéré que c'était un marqueur intermédiaire d'exposition, modérément corrélé à l'aire sous la courbe (AUC) de concentration entre deux prises ($AUC_{0\text{-}12\,h}$ pour deux prises quotidiennes ou $AUC_{0\text{-}24\,h}$ pour une prise quotidienne) qui, elle, est considérée comme le meilleur indice d'exposition.

En cas de discordance entre les signes cliniques et la valeur de C0 ou pour les patients chez qui la vitesse d'élimination est notoirement modifiée (interaction médicamenteuse, polymorphismes déficients pour CYP3A4 et CYP3A5), l'AUC peut être estimée par approche pharmacocinétique.

Concentrations efficaces

La concentration résiduelle efficace minimale semble être de 5 ng/ml, voire 10 ng/ml en période post-transplantation précoce où les risques de rejet sont plus importants.

Concentrations toxiques

Le seuil de toxicité proposé est de 20 ng/ml. S'il permet d'éviter des surdosages importants, il doit être affiné en tenant compte notamment du terrain et du contexte clinique (fonction rénale, présence d'une infection, etc.).

Marge thérapeutique

En association avec corticoïdes et mycophénolate mofétil (ou éventuellement azathioprine), la cible proposée est de :

- chez l'adulte, 10 à 15 ng/ml de j0 à j42 post-greffe, puis 5 à 10 ng/ml ;
- chez l'enfant, 10 à 20 ng/ml en période précoce, puis 5 à 15 ng/ml.

Cette approche permet d'éviter les problèmes d'inefficacité ou de toxicité majeurs mais son aspect univoque pour toute indication, tout sujet et toute association est simplement indicatif. La recherche individualisée de la concentration minimale efficace est souhaitable. La tendance clinique à la minimisation des inhibiteurs de la calcineurine (ICN) doit être incorporée aujourd'hui à cette réflexion.

Il est également important de signaler que les C0 obtenues pour la formulation à libération prolongée Advagraf® sont en moyenne 10 à 15 % plus faibles, à doses et AUC égales, que celles obtenues avec la formulation Prograf®. La biodisponibilité de la formulation à libération prolongée Envarsus® est plus élevée que celle du Prograf® d'environ 30 %, mais à AUC égale, les C0 sont égales. L'estimation de l'$AUC_{0\text{-}12\,h}$ pour Prograf® et de l'$AUC_{0\text{-}24\,h}$ (pour Advagraf® ou Envarsus®) peut être utile lors du passage d'une formulation à l'autre. Attention : on ne peut pas comparer strictement l'$AUC_{0\text{-}24\,h}$ d'une formulation à libération prolongée à $2 \times$ l'$AUC_{0\text{-}12\,h}$ du Prograf® car la pharmacocinétique du tacrolimus subit un fort effet circadien, si bien que son $AUC_{12\text{-}24\,h}$ est inférieure à l'$AUC_{0\text{-}12\,h}$.

Adaptation de posologie par méthodes pharmacocinétiques

Comme indiqué plus haut, elle peut être utile en cas de suspicion de problèmes d'absorption ou d'observance, d'étude d'interactions médicamenteuses ou dans des populations particulières.

Des stratégies de prélèvement limité avec régression multilinéaire ou avec méthode pharmacocinétique et estimation bayésienne ont été proposées pour estimer l'$AUC_{0\text{-}12\,h}$ ou l'$AUC_{0\text{-}24\,h}$ du tacrolimus.

Déclaration de liens d'intérêts : P. Marquet a reçu des subventions de recherche d'Astellas, des honoraires d'expert d'Astellas, Chiesi et Sandoz. F. Saint-Marcoux a reçu des honoraires et des invitations à des congrès d'Astellas. É-M. Billaud a bénéficié d'invitations d'Astellas à un congrès scientifique.

Pour en savoir plus

Seger C, Shipkova M, Christians U, Billaud EM, Wang P, Holt DW, et al. Assuring the proper analytical performance of measurement procedures for immunosuppressive drug concentrations in clinical practice: recommendations of the international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology Immunosuppressive Drug Scientific Committee. *Ther Drug Monit* 2016;**38**:170–89.

Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, Haufroid V, Holt DW, Johnston A, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit* 2009;**31**:139–52.

É.-M. Billaud, Maître de conférences des Universités, praticien hospitalier (eliane.billaud@aphp.fr).
Service de pharmacologie, Hôpital européen Georges-Pompidou, 20-40, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France.

P. Marquet, Professeur des Universités, praticien hospitalier.
F. Saint-Marcoux, Professeur des Universités, praticien hospitalier.
Service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance, Centre hospitalier universitaire, 2, avenue Martin-Luther-King, 87042 Limoges cedex, France.

Toute référence à cet article doit porter la mention : Billaud É-M, Marquet P, Saint-Marcoux F. Suivi thérapeutique pharmacologique du tacrolimus. EMC - Biologie médicale 2018;13(3):1-4 [Article 90-45-0240-A].

Suivi thérapeutique pharmacologique des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse du VIH

N. Venisse, E. Dailly

Une revue de la littérature a été effectuée pour retrouver les arguments en faveur d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) de première génération (névirapine, éfavirenz) et de deuxième génération (étravirine et rilpivirine). Une grande variabilité inter- et/ou intra-individuelle de la pharmacocinétique de tous ces médicaments a été mise en évidence. La démonstration d'une relation entre la concentration plasmatique de ces médicaments et l'efficacité et/ou la toxicité est plus convaincante à ce jour pour les INNTI de première génération par rapport à ceux de deuxième génération. Les arguments en faveur du STP des INNTI ne justifient pas un suivi systématique chez tous les patients mais permettent de recommander ce suivi dans des situations particulières avec un niveau de preuve plus élevé pour les INNTI de première génération par rapport à ceux de deuxième génération.

Mots-clés : Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ; Suivi thérapeutique pharmacologique ; Éfavirenz ; Névirapine ; Étravirine ; Rilpivirine

Plan

■ Présentation

Identification

- Dénominations communes internationales : névirapine (NVP), éfavirenz (EFV), étravirine (ETV), rilpivirine (RPV).
- Classe chimique (Fig. 1).
- Classe pharmacothérapeutique : inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse du virus de l'immunodéficience humaine [VIH] (INNTI).
- Noms de spécialité :
  - NVP : Viramune®, génériques de la névirapine disponibles ;
  - EFV : Sustiva®, Atripla® (en association avec emtricitabine, ténofovir disoproxil), génériques de l'éfavirenz disponibles ;
  - ETV : Intelence®
  - RPV : Édurant®, Eviplera® (en association avec emtricitabine, ténofovir disoproxil), Odefsey® (en association avec emtricitabine, ténofovir alafénamide).

Formes galéniques, voies

- Voie orale.
- NVP : comprimés, comprimés à libération prolongée, suspension buvable.
- EFV : gélules, comprimés.
- ETV : comprimés.
- RPV : comprimés.

Indications

- NVP : en association à d'autres médicaments antirétroviraux, pour le traitement des adultes, adolescents et enfants de tout âge infectés par le VIH-1 [1].
- EFV : en association avec d'autres antirétroviraux dans le traitement de l'infection par le VIH-1 chez l'adulte, l'adolescent et l'enfant de 3 mois et plus, et pesant au moins 3,5 kg [2].
- ETV : en association avec un inhibiteur de protéase boosté et d'autres médicaments antirétroviraux ; elle est indiquée dans le

Volume 13 > n°3 > juillet 2018
http://dx.doi.org/10.1016/S2211-9698(18)78452-5

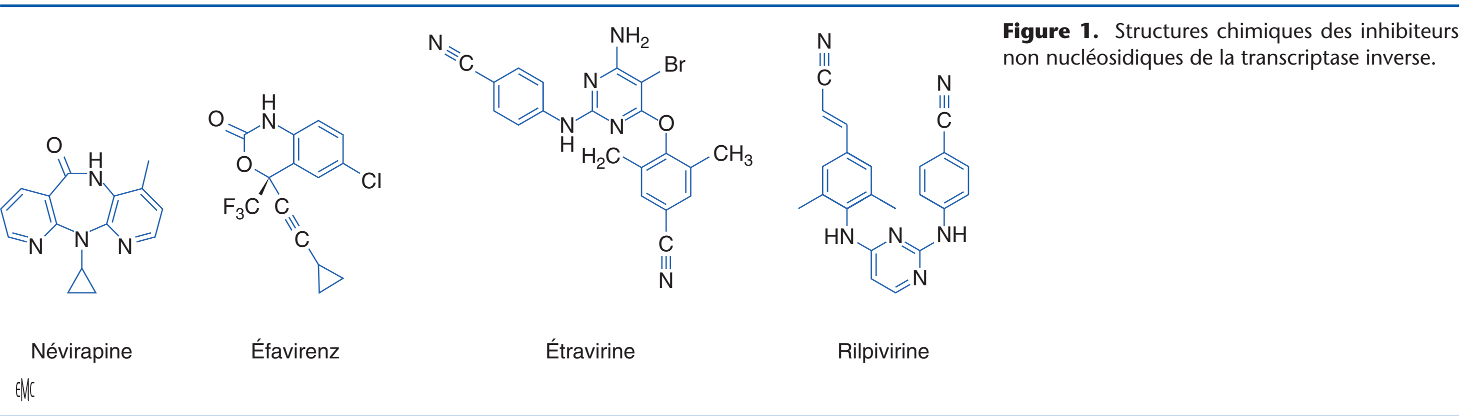


Figure 1. Structures chimiques des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse.

Tableau 1.
Posologie pédiatrique de la névirapine.

Doses pédiatriques recommandées en fonction de la surface corporelle (SC) après la période d'initiation	
SC (m^2)	Dose de névirapine cp LP (mg)
0,58–0,83	200 (2 × 100 mg)
0,84–1,16	300 (3 × 100 mg)
≥ 1,17	400 (1 × 400 mg)

Tableau 2.
Posologie pédiatrique de l'éfavirenz.

Poids corporel (kg)	Dose d'éfavirenz (mg)
3,5 à < 5	100
5 à < 7,5	150
7,5 à < 15	200
15 à < 20	250
20 à < 25	300
25 à < 32,5	350
32,5 à < 40	400
≥ 40	600

traitement de l'infection par le VIH-1 chez les adultes prétraités par des antirétroviraux et chez les enfants et adolescents à partir de l'âge de 6 ans prétraités par des antirétroviraux [3].
- RPV : en association avec d'autres médicaments antirétroviraux, elle est indiquée dans le traitement de l'infection par le VIH-1 chez des patients âgés de 12 ans ou plus, naïfs de traitement antirétroviral, ayant une charge virale inférieure ou égale à 100 000 copies/ml d'acide ribonucléique du VIH-1 [4].

Posologies usuelles et périodicité d'administration

NVP [1]

- Adultes : 200 mg par jour pendant les 14 premiers jours, puis 400 mg par jour.
- Enfants : 150 mg/m^2 une fois par jour pendant deux semaines pour la période d'initiation ; pour la période d'entretien, 150 mg/m^2 deux fois par jour pour les formes à libération immédiate. Pour les formes à libération prolongée, prise une fois par jour suivant le Tableau 1.

EFV [2]

- Adultes : 600 mg par voie orale en une seule prise quotidienne à jeun.
- Enfants : administration en dose unique quotidienne (Tableau 2).

Tableau 3.
Posologie de l'étravirine recommandée chez les patients pédiatriques âgés de 6 à moins de 18 ans.

Poids	Dose d'étravirine
≥ 16 à < 20 kg	100 mg 2 fois/j
≥ 20 à < 25 kg	125 mg 2 fois/j
≥ 25 à < 30 kg	150 mg 2 fois/j
≥ 30 kg	200 mg 2 fois/j

Étravirine [3] (Tableau 3)

- Adultes : 200 mg deux fois par jour, après un repas.
- Enfants : administration après un repas.

Rilpivirine [4]

- 25 mg pris une fois par jour avec un repas.

■ Justification du suivi thérapeutique pharmacologique

Les INNTI sont similaires, par leur mécanisme d'action, pour bloquer la multiplication du virus, possèdent des demi-vies d'élimination longues, un métabolisme hépatique qui diffère en fonction des cytochromes P450 impliqués (Tableau 4). La NVP et l'EFV sont des INNTI dits de première génération, possédant une faible barrière génétique à l'origine de l'apparition de résistance et des effets indésirables principalement hépatiques, cutanés, allergiques (pour la NVP) et une toxicité sur le système nerveux central pour l'EFV [5, 6]. Des INNTI dits de deuxième génération, l'ETV et la RPV, ont été développés et permettent d'améliorer le profil de résistance et des effets indésirables [7, 8].

L'objectif de ce travail est de déterminer si les conditions sont obtenues avec les INNTI pour effectuer un suivi thérapeutique pharmacologique. Les éléments nécessaires pour permettre ce suivi sont :
- l'existence d'une grande variabilité inter- et/ou intra-individuelle de la pharmacocinétique des médicaments associée à un faible index thérapeutique ;
- l'existence de moyens analytiques adaptés permettant de mesurer les concentrations plasmatiques des médicaments ;
- l'existence d'une relation entre exposition et efficacité et/ou toxicité du traitement. Cette relation doit permettre, en association avec les paramètres virologiques et immunologiques, d'ajuster le traitement avant l'apparition de résistances et/ou des effets indésirables.

■ Pharmacocinétique

Facteurs influençant la cinétique du composé

Pharmacogénétique

La présence de mutations (516G>T, 983T>C) diminuant l'activité du CYP 450 2B6 a été associée à une augmentation

Tableau 4.
Propriétés pharmacocinétiques des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse.

	t1/2 (h)	Concentrations résiduelles	Métabolisme	Inducteur du métabolisme hépatique
EFV [2]	40–55	Cmin recommandée : 1000 à 4000 ng/ml	CYP 450 2B6 (voie mineure 3A4, 2A6)	Oui (CYP 3A4, 2B6)
NVP [1]	25–30	Cmin recommandée : 3000 à 8000 ng/ml	CYP 3A4, 2B6	Oui (CYP 3A4, 2B6)
ETV [3]	30–40	Cmin observée : 260 (110–3960) ng/ml ; Cmin observée : 224 (58–503) ng/ml	CYP 3A4, 2C9, 2C19	Oui (CYP 3A4)
RPV [4, 9]	25–45	Cmin observée pour une posologie de 25 mg × 1/j : 80 ± 37 ng/ml Cmin recommandée : > 50 ng/ml	CYP 3A4	Non

EFV : éfavirenz ; NVP : névirapine ; ETV : étravirine ; RPV : rilpivirine.

Tableau 5.
Relations entre les mutations du CYP450 2B6 et la pharmacocinétique et la toxicité de la névirapine (NVP) et de l'éfavirenz (EFV).

Mutations	Impact sur la pharmacocinétique de l'éfavirenz	Impact sur la pharmacocinétique de la névirapine	Impact sur la toxicité de l'éfavirenz	Impact sur la réponse immunologique de la névirapine
516G>T	↑ exposition EFV [10–15, 23, 24, 27–34]	↑ exposition NVP [11, 16, 20, 29, 32, 35, 36]	↑ toxicité neurologique [10–15]	↑ CD4 [16]
983T>C	↑ exposition EFV [15, 23, 29, 34]	↑ exposition NVP [20, 29, 37]	↑ toxicité neurologique [15]	

de l'exposition à l'EFV et à la NVP (Tableau 5). Des études ont également montré que cette surexposition était corrélée à une augmentation de la toxicité neurologique de l'EFV [10–15]. Une relation entre une surexposition à la NVP et une toxicité hépatique accrue n'a pas été mise en évidence. Une relation entre la surexposition à la NVP et une amélioration de la réponse immunologique a été observée [16]. Des résultats contradictoires ont été observés concernant l'influence d'autres polymorphismes sur la pharmacocinétique de l'EFV [17, 18]. L'influence des autres polymorphismes sur l'exposition à la NVP et l'EFV semble moins importante que celle affectant le CYP 450 2B6 [15, 19–21]. Toutefois, chez les sujets possédant une activité diminuée du CYP 450 2B6, l'influence des polymorphismes sur les voies habituellement mineures de métabolisation de l'EFV (CYP 2A6, UGT 2B7) peut être accrue [22]. Certaines études n'ont pas mis en évidence d'influence des mutations 516G>T et/ou 983T>C sur l'exposition à la NVP, suggérant que la relation entre ces mutations et l'exposition à la NVP était moins forte que celle observée avec l'EFV [23, 24].

Contrairement aux nombreux éléments de preuve reliant la pharmacogénétique et l'exposition de l'organisme à la NVP et l'EFV, l'influence des polymorphismes génétiques sur la pharmacocinétique de l'ETV et la RPV semble limitée [25, 26].

Alimentation

L'exposition à l'EFV est augmentée lorsque l'EFV est absorbé avec de la nourriture [38]. Il est recommandé de prendre l'EFV à jeun car une exposition augmentée à l'EFV peut entraîner une augmentation de la fréquence des effets indésirables [2]. Les biodisponibilités de la RPV et l'ETV sont également améliorées en association avec de la nourriture [39, 40]. Pour éviter une mauvaise absorption digestive de la RPV et de l'ETV, il est recommandé de ne pas prendre à jeun la RPV ou l'ETV.

Populations particulières

En accord avec les mutations (516G>T, 983T>C) qui affectent l'activité du CYP 450 2B6 et la pharmacocinétique de l'EFV et de la NVP, la population d'origine africaine, qui possède une fréquence élevée pour ces mutations, est davantage sujette à présenter des concentrations plasmatiques élevées en EFV ou NVP [29]. Chez les patientes 516G homozygotes, une diminution de l'exposition à l'EFV a été constatée pendant la grossesse par rapport à la période post-partum [41]. Parmi les facteurs de variabilité de la pharmacocinétique de l'EFV, le sexe a également été identifié, avec des concentrations plasmatiques résiduelles supérieures chez les femmes [42]. De même, les concentrations plasmatiques de la NVP seraient supérieures chez la femme en raison d'une clairance diminuée [43, 44]. Les jeunes enfants diffèrent des adultes et des enfants plus âgés notamment par leurs capacités métaboliques, ce qui peut être à l'origine de sous-dosage en NVP à l'initiation du traitement [45]. Pour tenir compte de ces particularités, la NVP doit être administrée chez les enfants à des posologies adaptées sur la base de la surface corporelle ou du poids avec des formes galéniques particulières permettant de limiter le risque de sous-exposition à la NVP [45–49]. La posologie étant basée sur la surface corporelle ou le poids, une sous-exposition à la NVP pourrait être observée chez les enfants dénutris. En cas de dénutrition modérée, aucune différence significative de l'exposition à la NVP n'a été observée entre les enfants dénutris et non dénutris [50]. L'influence de la grossesse sur la pharmacocinétique de la NVP a été étudiée dans plusieurs études [51–54]. La majorité des études [51, 53, 54] conclut à une diminution de l'exposition à la NVP (baisse de 20 % des concentrations de NVP d'après Lamorde et al. par rapport à la période post-partum [54]) durant la grossesse liée à une augmentation de la clairance d'après von Hentig et al. [51]. Toutefois, Capparelli et al. n'ont pas mis en évidence de variation significative dans l'exposition à la NVP pendant la grossesse [52]. Aucune étude n'a établi de lien entre ces baisses d'exposition à la NVP et une éventuelle baisse de l'efficacité antivirale. L'influence de la grossesse sur la pharmacocinétique de la RPV a également été évaluée mettant en évidence une baisse significative de l'exposition à la RPV pendant la grossesse par rapport à la période post-partum [55, 56]. La pharmacocinétique de l'ETV a été étudiée chez quatre patientes enceintes, mettant en évidence des paramètres pharmacocinétiques comparables à ceux observés chez des adultes hommes ou femmes non enceintes [57]. Des résultats similaires ont été observés pour des femmes enceintes au deuxième trimestre de grossesse ($n = 5$) alors qu'une augmentation de l'exposition à l'ETV ($n = 12$) était observée au troisième trimestre de grossesse ($n = 12$) par rapport à des patientes en post-partum ($n = 8$) [58].

Interactions médicamenteuses pharmacocinétiques

Tous les INNTI possèdent un métabolisme hépatique passant par le CYP 450 3A4. Le métabolisme par le CYP 450 2B6 concerne la NVP et l'EFV. Le métabolisme par CYP 450 2C9 et 2C19 concerne uniquement l'ETV. L'EFV, la NVP et l'ETV possèdent des propriétés inductrices enzymatiques des enzymes du métabolisme hépatique. Par ces effets inducteurs enzymatiques, l'EFV, la NVP et l'ETV sont susceptibles d'abaisser les concentrations sanguines des autres médicaments avec un métabolisme hépatique [59]. Inversement, les médicaments inhibiteurs enzymatiques tels que des antifongiques azolés et les inducteurs enzymatiques comme le millepertuis, la rifabutine ou la rifampicine sont susceptibles respectivement d'augmenter et d'abaisser les concentrations sanguines des INNTI. Toutefois, l'EFV peut être associé à la rifampicine en augmentant la posologie de l'EFV à 800 mg par jour chez les sujets de plus de 50 kg [2]. Cette association n'est pas

recommandée avec la NVP, l'ETV et la RPV car les concentrations sanguines de ces INNTI en association avec la rifampicine deviennent insuffisantes pour conserver l'activité antivirale [1, 3, 4]. De même, l'association de la RPV avec les inhibiteurs de la pompe à protons est contre-indiquée car l'augmentation du pH gastrique peut entraîner une diminution des concentrations plasmatiques de la RPV réduisant l'effet thérapeutique [59]. L'apparition des INNTI de deuxième génération a été à l'origine de passage des INNTI de première génération vers les INNTI générant des interactions médicamenteuses entre ces INNTI lors des changements de thérapie. L'effet inducteur enzymatique de l'EFV et de la NVP persistant après le changement de thérapie est susceptible de diminuer les concentrations sanguines de l'INNTI de deuxième génération durant la phase d'introduction. Les données cliniques montrent que, lors de ces changements de thérapie, l'efficacité clinique est maintenue malgré ces interactions pharmacocinétiques [60].

■ Analyse

Conditions préanalytiques

Nature

Plasma, plus rarement sérum ou spots de sang séché sur papier buvard [61, 62].

Contenant

Tube contenant de l'héparinate de lithium sans gel ou de l'éthylènediaminetétraacétique, tube sec sans gel.

Date et heure de prélèvement

La plupart des études ont montré que le paramètre pharmacocinétique corrélé à l'efficacité et/ou la toxicité était la concentration résiduelle. Idéalement, ce prélèvement doit être réalisé juste avant la prise du médicament, même si les données concentration-efficacité/toxicité de l'EFV et de la NVP ont été obtenues avec des échantillons de sang prélevés entre huit et 20 heures après la prise, ce qui était justifié par la longue demi-vie de ces médicaments [63, 64]. L'état d'équilibre des concentrations est atteint en 7 à 15 jours selon les molécules en raison de cette longue demi-vie.

Renseignements cliniques à fournir

Date et heure de prélèvement, date et heure de la dernière prise, date de début du traitement, posologie, fréquence d'administration et traitements associés.

Acheminement du prélèvement

La stabilité à température ambiante n'a pas été démontrée au-delà de 24 heures (voir infra). Si le transport doit excéder 24 heures, l'échantillon doit donc être congelé à –20 °C.

Prétraitement éventuellement nécessaire et conservation préanalytique

- RPV : centrifugation dans les 24 heures [65], stable dans plasma pendant au moins neuf heures à température ambiante et plusieurs mois (5 mois) à –20 °C [66].
- ETV : stable pendant 48 heures à température ambiante et au moins six semaines à –20 °C [67].
- EFV et NVP : stable pendant au moins 24 heures à température ambiante [68], sept jours à +4 °C et pendant six mois à –20 °C [69].

Méthodes analytiques

Nature des substances dosées

Le dosage des molécules mères est recommandé, celui des métabolites ne présente pas d'intérêt pour le suivi thérapeutique pharmacologique.

Méthodes existantes

La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem constitue la méthode de référence pour ce type de dosage en raison de sa grande spécificité. Il existe de nombreuses méthodes validées dans la littérature [70]. Les méthodes multianalytes sont recommandées car elles permettent de doser simultanément les différents composés du traitement antirétroviral en une seule fois [71–77]. La spectrométrie de masse haute résolution peut être utilisée pour le dosage [78].

Critères de qualité

La méthode de dosage doit être validée selon les guides de validation applicables à la bioanalyse [79] comportant les critères suivants : linéarité, justesse, précision, limite de quantification, effets matrices et stabilité.

À titre d'exemple, la gamme de calibration peut être comprise dans les limites suivantes :

- NVP : 500 à 10 000 ng/ml ;
- EFV : 250 à 8000 ng/ml ;
- ETV : 50 à 3000 ng/ml ;
- RPV : 10 à 1000 ng/ml.

La limite de quantification correspond alors au point le plus bas de la gamme.

Contrôles de qualité

Un contrôle de qualité externe contenant l'ensemble des médicaments non nucléosidiques ainsi que d'autres médicaments antiviraux est disponible auprès d'Asqualab.

■ Relation concentration et/ou dose-effet et interprétation

Données disponibles

EFV

Les relations exposition-efficacité et exposition-toxicité de l'EFV ont été mises en évidence chez 130 patients VIH-positif recevant de l'EFV à la dose standard de 600 mg par jour en association avec d'autres antirétroviraux (2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse [INTI] ou un inhibiteur de protéase [IP] ± un INTI). Les concentrations mesurées 8 à 20 heures après la prise étaient très variables d'un individu à l'autre (125–15 230 ng/ml ; coefficient de variation : 118 %) et étaient corrélées à l'efficacité du traitement évaluée par la mesure de la charge virale. Davantage de patients étaient en échec de traitement (charge virale > 400 copies/ml) lorsque la concentration plasmatique d'EFV était inférieure à 1000 ng/ml. Dans cette même étude, des concentrations élevées d'EFV étaient associées à une plus forte incidence de troubles neuropsychiques. Les troubles rapportés chez ces patients étaient des étourdissements, des sensations d'évanouissement, de vertiges, d'ivresse ou de perte de contrôle, des cauchemars et des difficultés de concentrations. Cette étude a permis de définir la zone thérapeutique des concentrations d'EFV qui doivent être comprises entre 1000 et 4000 ng/ml pour obtenir un traitement efficace avec une faible incidence de toxicité [63]. D'autres études ont confirmé ces résultats. Ainsi, l'analyse d'un sous-groupe de l'étude 2NN a montré que les patients présentant une concentration supérieure à 1100 ng/ml avaient 89 % de chance de ne pas présenter d'échec virologique [80] et une étude en double aveugle, randomisée et contrôlée a confirmé l'existence d'une relation entre concentration et troubles neuropsychiques lors de la première semaine de traitement [81].

Sur la base de ces études, le groupe d'experts français [82] recommande une zone thérapeutique d'EFV de 1000 à 4000 ng/ml.

NVP

L'analyse a posteriori des données de l'étude INCAS, essai en double aveugle, randomisé et contrôlé, a montré que les patients

chez qui les concentrations de NVP étaient les plus élevées présentaient une réduction initiale plus rapide de la charge virale, une atteinte plus rapide de l'indétectabilité ainsi qu'une plus grande chance d'obtenir une charge virale indétectable. Une concentration médiane de 3690 ng/ml à la semaine 24 était prédictive d'un succès virologique à semaine 52 (charge virale < 20 copies/ml) [83]. Une étude de cohorte a aussi démontré qu'il existait une relation entre concentration de NVP et efficacité. Les 189 patients évalués recevaient de la NVP à dose standard en association essentiellement (98 % des cas) avec deux INTI. Les patients qui présentaient des concentrations de névirapine inférieures à 3000 ng/ml présentaient un risque d'échec cinq fois plus important que ceux avec les concentrations les plus élevées. Dans cette cohorte, 8 % des patients ont arrêté la NVP en raison d'effets secondaires (rash, troubles hépatiques, troubles gastro-intestinaux, dépression) mais aucune relation avec des concentrations élevées de NVP n'a pu être mise en évidence [64]. Ces relations entre concentration et efficacité de la NVP ont été confirmées dans d'autres études telles que celle de Duong et al. qui a montré que les patients présentant un échec virologique (1 rebond > 1000 copies/ml ou 2 charges virales consécutives > 20 copies/ml) présentaient les concentrations de NVP les plus faibles (2572 ± 1642 ng/ml versus 4550 ± 2084 ng/ml respectivement dans les groupes échec virologique versus succès virologique) [84] ou celle de Gonzalez de Requena qui démontre l'effet des concentrations les plus faibles sur le risque de survenue de résistance à la NVP [85]. En revanche, l'étude de Van Leth et al. n'a pas permis de définir de valeur seuil de concentration de NVP prédictive de l'efficacité [80].

En ce qui concerne la relation entre concentration et toxicité de la NVP, les données disponibles sont moins convaincantes. En effet, excepté l'étude cas-contrôle de Gonzalez de Requena [86] qui a retrouvé une relation entre concentration élevée de NVP (> 6000 ng/ml) et toxicité hépatique sous la forme d'une augmentation des transaminases, aucune autre étude n'a pu mettre en évidence de relations entre la concentration et la toxicité [87–90].

La zone thérapeutique de la NVP recommandée par le rapport d'expert sur la base de ces études est de 3000 à 8000 ng/ml [82].

ETV

Peu de données sont disponibles sur ce sujet à l'exception de l'analyse pharmacocinétique-pharmacodynamique des données de l'étude de phase 3 DUET ($n = 577$ patients) qui n'a pas permis de mettre en évidence une relation entre la concentration (AUC ou Cmin) d'ETV et la réponse virologique (charge virale < 50 copies/ml) ou immunologique (évolution du nombre de CD4). Il est probable que la grande majorité des concentrations obtenues chez les patients soient situées dans la phase de plateau de la courbe concentration-réponse, ne permettant pas d'objectiver une relation entre concentration et réponse. De même, aucune relation entre exposition à l'ETV et l'incidence des effets secondaires (anomalies du bilan biologique, et de l'électrocardiogramme, rash, etc.) n'a pu être mise en évidence à partir de ces données [91].

RPV

Concernant les relations concentration-efficacité/toxicité de la RPV, il n'existe qu'une seule étude. Il s'agit de l'analyse pharmacocinétique-pharmacodynamique des données obtenues durant les essais de phase 3 de la RPV (données poolées des essais ECHO et THRIVE) qui a montré qu'il existait une relation entre l'exposition à la RPV (AUC ou Cmin) et l'efficacité évaluée en termes de réponse virologique (charge virale < 50 copies/ml). Cette analyse a montré qu'une plus faible réponse virologique était obtenue chez les patients présentant la plus faible exposition [92]. Cette relation était aussi observée lorsque le paramètre d'exposition était le quotient inhibiteur, c'est-à-dire le ratio de la concentration résiduelle ou Cmin sur la concentration inhibitrice 50 % (IC50). À titre indicatif, le pourcentage de répondeur est inférieur à 80 % pour des concentrations résiduelles de RPV inférieures à 50 ng/ml. Pour les patients présentant une charge virale élevée (> 100 000 copies/ml), la réponse virologique n'était que de 67 % chez les patients présentant une exposition faible (1er quartile Q1 correspondant à une concentration résiduelle de 42 ng/ml).

Tableau 6.
Zone thérapeutique des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI).

INNTI	Zone thérapeutique (ng/ml)
Éfavirenz	1000–4000
Névirapine	3000–8000
Étravirine	Non définie
Rilpivirine	> 50

Aucune relation entre exposition et toxicité (effets secondaires psychiatriques, cutanés, hépatobiliaires) n'a pu être mise en évidence. En revanche, il existe une relation entre le Cmax de la RPV et la prolongation de l'intervalle QT qui doit rendre prudente l'association de la RPV à des médicaments connus pour augmenter le QT [93].

Étude prospective d'adaptation de posologie

L'étude RADAR, une étude dite « concentration-contrôlée », a été menée avec les INNTI de première génération (NVP et EFV), mais aussi avec les inhibiteurs de protéase (IP), afin de démontrer l'intérêt du STP de ces médicaments. Il s'agissait d'une étude multicentrique, randomisée et contrôlée, comparant un groupe dans lequel la posologie était optimisée en fonction de la concentration de l'INNTI ou de l'IP à un groupe contrôle dont le traitement était optimisé selon les standards de soins habituels. Les résultats de cette étude n'ont pas réussi à démontrer l'intérêt du STP puisqu'à la semaine 24 la différence d'efficacité entre les deux bras n'était pas statistiquement significative. Il est à noter que, dans cette étude, les recommandations de modification de posologie étaient faiblement suivies (au mieux dans 30 % des cas) par les patients ou leurs médecins traitants, soulignant la difficulté de ce type d'étude [94]. Avec un schéma d'étude assez proche, l'étude GENOPHAR a aussi tenté de démontrer l'intérêt du STP des IP et des INNTI de première génération (NVP, EFV). Les patients étaient randomisés soit dans un groupe dans lequel la posologie était optimisée en fonction de la mesure de la concentration, soit dans un groupe dans lequel le traitement était optimisé selon les standards de soins habituels. Cette étude n'a pas non plus réussi à démontrer un avantage statistiquement significatif du STP sur l'efficacité du traitement, bien que les recommandations d'ajustement posologique aient été largement suivies (96,5 % des cas) dans cette étude conduite dans un seul centre [95].

Ces deux études déjà anciennes n'ont pas permis d'apporter des preuves de l'efficacité du STP de l'EFV et de la NVP. La méta-analyse de Kredo et al. [96] suggère que l'une des raisons pourrait être le manque de puissance statistique de ces études.

Interprétation

Dans tous les cas, il n'y a pas d'indication pour un STP systématique chez tous les patients. Celui-ci devrait être réservé à certains patients ou à des situations particulières comme les patients présentant des effets secondaires pouvant être liés à des concentrations élevées de médicament (EFV et troubles neuropsychiques), les patients présentant des altérations de la pharmacocinétique dont l'effet est peu ou pas connu, les patients en échec virologique ou dans le cas d'interactions médicamenteuses non encore étudiées ou dont les conséquences pharmacocinétiques sont difficilement prévisibles (Tableau 6).

■ Adaptation de posologie par méthodes pharmacocinétiques

Des approches bayésiennes ont été développées pour l'interprétation des concentrations d'EFV [97]. Fayet et al. ont proposé des réductions de posologies fondées sur une approche de pharmacocinétique bayésienne pour les patients présentant des concentrations élevées d'EFV [98]. De même Chetty et al. avec

des méthodes similaires ont montré que la concentration d'EFV 24 heures après une dose test permettait d'identifier les patients métaboliseurs lents [99].

Déclaration de liens d'intérêts : N. Venisse : conférences – invitation en qualité d'auditeur (frais de déplacement et d'hébergement pris en charge par Janssen Cilag) –, interventions ponctuelles – orateur (Janssen Cilag, ViiV Healthcare, Bristol Myers Squibb, MSD) ; Eric Dailly : conférences – invitation en qualité d'auditeur (frais de déplacement et d'hébergement pris en charge par Janssen Cilag).



■ Références

[1] Boehringer Ingelheim. Névirapine, résumé des caractéristiques produit. 2014.

[2] Bristol Myers Squibb. Efavirenz, résumé des caractéristiques produit. 2015.

[3] Janssen Cilag. Etravirine, résumé des caractéristiques produit. 2014.

[4] Janssen Cilag. Rilpivirine, résumé des caractéristiques produit. 2016.

[5] Dellamonica P, Di Perri G, Garraffo R. NNRTIs: pharmacological data. *Med Mal Infect* 2012;**42**:287–95.

[6] Shubber Z, Calmy A, Andrieux-Meyer I, Vitoria M, Renaud-Théry F, Shaffer N, et al. Adverse events associated with nevirapine and efavirenz-based first-line antiretroviral therapy: a systematic review and meta-analysis. *AIDS* 2013;**27**:1403–12.

[7] Ghosn J, Chaix M-L, Delaugerre C. HIV-1 resistance to first- and second-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS Rev* 2009;**11**:165–73.

[8] Behrens G, Rijnders B, Nelson M, Orkin C, Cohen C, Mills A, et al. Rilpivirine versus efavirenz with emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate in treatment-naïve HIV-1-infected patients with HIV-1 RNA ≤100.000 copies/mL: week 96 pooled ECHO/THRIVE subanalysis. *AIDS Patient Care STD* 2014;**28**:168–75.

[9] Néant N, Gattacceca F, Lê MP, Yazdanpanah Y, Dhiver C, Bregigeon S, et al. Population pharmacokinetics of Rilpivirine in HIV-1-infected patients treated with the single-tablet regimen rilpivirine/tenofovir/emtricitabine. *Eur J Clin Pharmacol* 2018;**74**: 473–81.

[10] Haas DW, Ribaudo HJ, Kim RB, Tierney C, Wilkinson GR, Gulick RM, et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS* 2004;**18**:2391–400.

[11] Rotger M, Colombo S, Furrer H, Bleiber G, Buclin T, Lee BL, et al. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics* 2005;**15**:1–5.

[12] Pinillos F, Dandara C, Swart M, Strehlau R, Kuhn L, Patel F, et al. Case report: severe central nervous system manifestations associated with aberrant efavirenz metabolism in children: the role of CYP2B6 genetic variation. *BMC Infect Dis* 2016;**16**:56.

[13] Johnson DH, Gebretsadik T, Shintani A, Mayo G, Acosta EP, Stein CM, et al. Neuropsychometric correlates of efavirenz pharmacokinetics and pharmacogenetics following a single oral dose. *Br J Clin Pharmacol* 2013;**75**:997–1006.

[14] Lee SS, To KW, Lee MP, Wong NS, Chan DP, Li PC, et al. Sleep quality in efavirenz-treated Chinese HIV patients - comparing between GT and GG genotype of CYP2B6-516 G/T polymorphisms. *Int J STD AIDS* 2014;**25**:193–200.

[15] Ribaudo HJ, Liu H, Schwab M, Schaeffeler E, Eichelbaum M, Motsinger-Reif AA, et al. Effect of CYP2B6, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms on efavirenz pharmacokinetics and treatment response: an AIDS Clinical Trials Group study. *J Infect Dis* 2010;**202**:717–22.

[16] Saitoh A, Sarles E, Capparelli E, Aweeka F, Kovacs A, Burchett SK, et al. CYP2B6 genetic variants are associated with nevirapine pharmacokinetics and clinical response in HIV-1-infected children. *AIDS* 2007;**21**:2191–9.

[17] Cusato J, Tomasello C, Simiele M, Calcagno A, Bonora S, Marinaro L, et al. Efavirenz pharmacogenetics in a cohort of Italian patients. *Int J Antimicrob Agents* 2016;**47**:117–23.

[18] Winzer R, Langmann P, Zilly M, Tollmann F, Schubert J, Klinker H, et al. No influence of the P-glycoprotein genotype (MDR1 C3435T) on plasma levels of lopinavir and efavirenz during antiretroviral treatment. *Eur J Med Res* 2003;**8**:531–4.

[19] Heil SG, van der Ende ME, Schenk PW, van der Heiden I, Lindemans J, Burger D, et al. Associations between ABCB1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2D6, and CYP3A5 alleles in relation to efavirenz and nevirapine pharmacokinetics in HIV-infected individuals. *Ther Drug Monit* 2012;**34**:153–9.

[20] Calcagno A, D'Avolio A, Simiele M, Cusato J, Rostagno R, Libanore V, et al. Influence of CYP2B6 and ABCB1 SNPs on nevirapine plasma concentrations in Burundese HIV-positive patients using dried sample spot devices. *Br J Clin Pharmacol* 2012;**74**:134–40.

[21] Sinxadi PZ, Leger PD, McIlleron HM, Smith PJ, Dave JA, Levitt NS, et al. Pharmacogenetics of plasma efavirenz exposure in HIV-infected adults and children in South Africa. *Br J Clin Pharmacol* 2015;**80**:146–56.

[22] Haas DW, Kwara A, Richardson DM, Baker P, Papageorgiou I, Acosta EP, et al. Secondary metabolism pathway polymorphisms and plasma efavirenz concentrations in HIV-infected adults with CYP2B6 slow metabolizer genotypes. *J Antimicrob Chemother* 2014;**69**:2175–82.

[23] Haas DW, Gebretsadik T, Mayo G, Menon UN, Acosta EP, Shintani A, et al. Associations between CYP2B6 polymorphisms and pharmacokinetics after a single dose of nevirapine or efavirenz in African Americans. *J Infect Dis* 2009;**199**:872–80.

[24] Chen J, Sun J, Ma Q, Yao Y, Wang Z, Zhang L, et al. CYP2B6 polymorphism and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in Chinese HIV-infected patients. *Ther Drug Monit* 2010;**32**:573–8.

[25] Lubomirov R, Arab-Alameddine M, Rotger M, Fayet-Mello A, Martinez R, Guidi M, et al. Pharmacogenetics-based population pharmacokinetic analysis of etravirine in HIV-1 infected individuals. *Pharmacogenet Genomics* 2013;**23**:9–18.

[26] Aouri M, Barcelo C, Guidi M, Rotger M, Cavassini M, Hizrel C, et al. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics analysis of rilpivirine in HIV-1-infected individuals. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;**61**:e00899–916.

[27] Xu B-Y, Guo L-P, Lee S-S, Dong Q-M, Tan Y, Yao H, et al. Genetic variability of CYP2B6 polymorphisms in four southern Chinese populations. *World J Gastroenterol* 2007;**13**:2100–3.

[28] Rodriguez-Novoa S, Barreiro P, Rendón A, Jiménez-Nacher I, González-Lahoz J, Soriano V. Influence of 516G>T polymorphisms at the gene encoding the CYP450-2B6 isoenzyme on efavirenz plasma concentrations in HIV-infected subjects. *Clin Infect Dis* 2005;**40**:1358–61.

[29] Wyen C, Hendra H, Vogel M, Hoffmann C, Knechten H, Brockmeyer NH, et al. Impact of CYP2B6 983T>C polymorphism on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 2008;**61**:914–8.

[30] Kwara A, Lartey M, Sagoe KW, Rzek NL, Court MH. CYP2B6 (c.516G–>T) and CYP2A6 (*9B and/or *17) polymorphisms are independent predictors of efavirenz plasma concentrations in HIV-infected patients. *Br J Clin Pharmacol* 2009;**67**:427–36.

[31] Cabrera SE, Santos D, Valverde MP, Domínguez-Gil A, González F, Luna G, et al. Influence of the cytochrome P450 2B6 genotype on population pharmacokinetics of efavirenz in human immunodeficiency virus patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;**53**:2791–8.

[32] Uttayamakul S, Likanonsakul S, Manosuthi W, Wichukchinda N, Kalambaheti T, Nakayama EE, et al. Effects of CYP2B6 G516T polymorphisms on plasma efavirenz and nevirapine levels when co-administered with rifampicin in HIV/TB co-infected Thai adults. *AIDS Res Ther* 2010;**7**:8.

[33] Aurpibul L, Chotirosniramit N, Sugandhavesa P, Kosashunhanan N, Thetket S, Supindham T, et al. Correlation of CYP2B6-516G>T Polymorphism with Plasma Efavirenz Concentration and Depression in HIV-Infected Adults in Northern Thailand. *Curr HIV Res* 2012;**10**:653–60.

[34] Bienczak A, Cook A, Wiesner L, Olagunju A, Mulenga V, Kityo C, et al. The impact of genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of efavirenz in African children. *Br J Clin Pharmacol* 2016;**82**: 185–98.

[35] Penzak SR, Kabuye G, Mugyenyi P, Mbamanya F, Natarajan V, Alfaro RM, et al. Cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) G516T influences nevirapine plasma concentrations in HIV-infected patients in Uganda. *HIV Med* 2007;**8**:86–91.

[36] Chantarangsu S, Cressey TR, Mahasirimongkol S, Capparelli E, Tawon Y, Ngo-Giang-Huong N, et al. Influence of CYP2B6 polymorphisms on the persistence of plasma nevirapine concentrations following a single intra-partum dose for the prevention of mother to child transmission in HIV-infected Thai women. *J Antimicrob Chemother* 2009;**64**: 1265–73.

[37] Vardhanabhuti S, Acosta EP, Ribaudo HJ, Severe P, Lalloo U, Kumarasamy N, et al. Clinical and genetic determinants of plasma nevirapine exposure following an intrapartum dose to prevent mother-to-child HIV transmission. *J Infect Dis* 2013;**208**:662–71.

[38] Lamorde M, Byakika-Kibwika P, Tamale WS, Kiweewa F, Ryan M, Amara A, et al. Effect of food on the steady-state pharmacokinetics of tenofovir and emtricitabine plus efavirenz in Ugandan adults. *AIDS Res Treat* 2012;**2012**:105980.

[39] Custodio JM, Yin X, Hepner M, Ling KHJ, Cheng A, Kearney BP, et al. Effect of food on rilpivirine/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate, an antiretroviral single-tablet regimen for the treatment of HIV infection. *J Clin Pharmacol* 2014;**54**:378–85.

[40] Schöller-Gyüre M, Boffito M, Pozniak AL, Leemans R, Kakuda TN, Woodfall B, et al. Effects of different meal compositions and fasted state on the oral bioavailability of etravirine. *Pharmacotherapy* 2008;**28**:1215–22.

[41] Olagunju A, Bolaji O, Amara A, Else L, Okafor O, Adejuyigbe E, et al. Pharmacogenetics of pregnancy-induced changes in efavirenz pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2015;**97**: 298–306.

[42] Burger D, van der Heiden I, La Porte C, van der Ende M, Groeneveld P, Richter C, et al. Interpatient variability in the pharmacokinetics of the HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz: the effect of gender, race, and CYP2B6 polymorphism. *Br J Clin Pharmacol* 2006;**61**:148–54.

[43] La Porte C, Burger D, Gyssens I, Sprenger H, Koopmans P. Gender differences in nevirapine pharmacokinetics, fact or fiction (Abstract 10). Fourth International Workshop on Clinical Pharmacology of HIV Therapy, Cannes, France, 2003 Mar 27.

[44] Regazzi M, Villani P, Seminari E, Ravasi G, Cusato M, Marubbi F, et al. Sex differences in nevirapine disposition in HIV-infected patients. *AIDS* 2003;**17**:2399–400.

[45] Fillekes Q, Mulenga V, Kabamba D, Kankasa C, Thomason MJ, Cook A, et al. Is nevirapine dose-escalation appropriate in young, African, HIV-infected children? *AIDS* 2013;**27**:2111–5.

[46] Nikanjam M, Kabamba D, Cressey TR, Burger D, Aweeka FT, Acosta EP, et al. Nevirapine exposure with WHO pediatric weight band dosing: enhanced therapeutic concentrations predicted based on extensive international pharmacokinetic experience. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;**56**:5374–80.

[47] Foissac F, Bouazza N, Frange P, Blanche S, Faye A, Lachassinne E, et al. Evaluation of nevirapine dosing recommendations in HIV-infected children. *Br J Clin Pharmacol* 2013;**76**: 137–44.

[48] Fillekes Q, Mulenga V, Kabamba D, Kankasa C, Thomason MJ, Cook A, et al. Pharmacokinetics of nevirapine in HIV-infected infants weighing 3 kg to less than 6 kg taking paediatric fixed dose combination tablets. *AIDS* 2012;**26**:1795–800.

[49] Chokephaibulkit K, Cressey TR, Capparelli E, Sirisanthana V, Muresan P, Hongsiriwon S, et al. Pharmacokinetics and safety of a new paediatric fixed-dose combination of zidovudine/lamivudine/ nevirapine in HIV-infected children. *Antivir Ther* 2011;**16**: 1287–95.

[50] Pollock L, Else L, Poerksen G, Molyneux E, Moons P, Walker S, et al. Pharmacokinetics of nevirapine in HIV-infected children with and without malnutrition receiving divided adult fixed-dose combination tablets. *J Antimicrob Chemother* 2009;**64**: 1251–9.

[51] von Hentig N, Carlebach A, Gute P, Knecht G, Klauke S, Rohrbacher M, et al. A comparison of the steady-state pharmacokinetics of nevirapine in men, nonpregnant women and women in late pregnancy. *Br J Clin Pharmacol* 2006;**62**:552–9.

[52] Capparelli EV, Aweeka F, Hitti J, Stek A, Hu C, Burchett SK, et al. Chronic administration of nevirapine during pregnancy: impact of pregnancy on pharmacokinetics. *HIV Med* 2008;**9**: 214–20.

[53] Nellen JFJB, Damming M, Godfried MH, Boer K, van der Ende ME, Burger DM, et al. Steady-state nevirapine plasma concentrations are influenced by pregnancy. *HIV Med* 2008;**9**:234–8.

[54] Lamorde M, Byakika-Kibwika P, Okaba-Kayom V, Flaherty JP, Boffito M, Namakula R, et al. Suboptimal nevirapine steady-state pharmacokinetics during intrapartum compared with postpartum in HIV-1-seropositive Ugandan women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;**55**:345–50.

[55] Tran AH, Best BM, Stek A, Wang J, Capparelli EV, Burchett SK, et al. Pharmacokinetics of rilpivirine in HIV-infected pregnant women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2016;**72**:289–96.

[56] Schalkwijk S, Colbers A, Konopnicki D, Gingelmaier A, Lambert J, van der Ende M, et al. Lowered rilpivirine exposure during the third trimester of pregnancy in human immunodeficiency virus type 1-infected women. *Clin Infect Dis* 2017;**65**:1335–41.

[57] Izurieta P, Kakuda TN, Feys C, Witek J. Safety and pharmacokinetics of etravirine in pregnant HIV-1-infected women. *HIV Med* 2011;**12**:257–8.

[58] Best BM, Colbers A, Wang J, Taylor G, Stek A, van Kasteren M. Etravirine pharmacokinetics during pregnancy and postpartum. Conference on retroviruses and opportunistic infections (CROI 2015), Seattle, États-Unis, 2015.

[59] University of Liverpool. HIV Drug Interactions website [Internet]. www.hiv-druginteractions.org/.

[60] Dailly E, Allavena C, Deslandes G, Bouquie R, Jolliet P, Raffi F. Clinical relevance of the interaction when switching non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in patients infected with HIV. *Curr Clin Pharmacol* 2014;**9**:399–403.

[61] Koal T, Burhenne H, Römling R, Svoboda M, Resch K, Kaever V. Quantification of antiretroviral drugs in dried blood spot samples by means of liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2005;**19**:2995–3001.

[62] Duthaler U, Berger B, Erb S, Battegay M, Letang E, Gaugler S, et al. Automated high throughput analysis of antiretroviral drugs in dried blood spots. *J Mass Spectrom* 2017;**52**:534–42.

[63] Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, Greub G, Biollaz J, Buclin T. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS* 2001;**15**:71–5.

[64] de Vries-Sluijs TE, Dieleman JP, Arts D, Huitema AD, Beijnen JH, Schutten M, et al. Low nevirapine plasma concentrations predict virological failure in an unselected HIV-1-infected population. *Clin Pharmacokinet* 2003;**42**:599–605.

[65] Aouri M, Calmy A, Hirschel B, Telenti A, Buclin T, Cavassini M, et al. A validated assay by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the simultaneous quantification of elvitegravir and rilpivirine in HIV positive patients. *J Mass Spectrom* 2013;**48**:616–25.

[66] Gupta A, Guttikar S, Patel Y, Shrivastav PS, Sanyal M. Reliable LC-MS/MS assay for the estimation of rilpivirine in human plasma: application to a bioequivalence study and incurred sample reanalysis. *Drug Test Anal* 2015;**7**:290–9.

[67] Fayet A, Béguin A, Zanolari B, Cruchon S, Guignard N, Telenti A, et al. A LC-tandem MS assay for the simultaneous measurement of new antiretroviral agents: raltegravir, maraviroc, darunavir, and etravirine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;**877**:1057–69.

[68] Maganda B, Heudi O, Cortinovis A, Picard F, Kretz O, Minzi O. A fast and reliable reversed phase high performance liquid chromatography method for simultaneous determination of selected anti-retroviral and lumefantrine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2013;**919-920**:52–60.

[69] Kappelhoff BS, Rosing H, Huitema AD, Beijnen JH. Simple and rapid method for the simultaneous determination of the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors efavirenz and nevirapine in human plasma using liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2003;**792**:353–62.

[70] Pretorius E, Klinker H, Rosenkranz B. The role of therapeutic drug monitoring in the management of patients with human immunodeficiency virus infection. *Ther Drug Monit* 2011;**33**:265–74.

[71] Ter Heine R, Rosing H, Beijnen JH, Huitema ADR. A less sensitive detector does not necessarily result in a less sensitive method: fast quantification of 13 antiretroviral analytes in plasma with liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med* 2010;**48**:1153–5.

[72] Quaranta S, Woloch C, Paccou A, Giocanti M, Solas C, Lacarelle B. Validation of an electrospray ionization LC-MS/MS method for quantitative analysis of raltegravir, etravirine, and 9 other antiretroviral agents in human plasma samples. *Ther Drug Monit* 2009;**31**:695–702.

[73] Martin J, Deslandes G, Dailly E, Renaud C, Reliquet V, Raffi F, et al. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for quantification of nevirapine, indinavir, atazanavir, amprenavir, saquinavir, ritonavir, lopinavir, efavirenz, tipranavir, darunavir and maraviroc in the plasma of patients infected with HIV. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;**877**:3072–82.

[74] D'Avolio A, Siccardi M, Sciandra M, Baietto L, Lorena B, Bonora S, et al. HPLC-MS method for the simultaneous quantification of the new HIV protease inhibitor darunavir, and 11 other antiretroviral agents in plasma of HIV-infected patients. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007;**859**:234–40.

[75] ter Heine R, Alderden-Los CG, Rosing H, Hillebrand MJ, van Gorp EC, Huitema AD, et al. Fast and simultaneous determination of darunavir and eleven other antiretroviral drugs for therapeutic drug monitoring: method development and validation for the determination of all currently approved HIV protease inhibitors and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in human plasma by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2007;**21**:2505–14.
[76] Egge-Jacobsen W, Unger M, Niemann CU, Baluom M, Hirai S, Benet LZ, et al. Automated, fast, and sensitive quantification of drugs in human plasma by LC/LC-MS: quantification of 6 protease inhibitors and 3 nonnucleoside transcriptase inhibitors. *Ther Drug Monit* 2004;**26**:546–62.
[77] Rentsch KM. Sensitive and specific determination of eight antiretroviral agents in plasma by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2003;**788**:339–50.
[78] Marzinke MA, Breaud A, Parsons TL, Cohen MS, Piwowar-Manning E, Eshleman SH, et al. The development and validation of a method using high-resolution mass spectrometry (HRMS) for the qualitative detection of antiretroviral agents in human blood. *Clin Chim Acta* 2014;**433**:157–68.
[79] European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation. 2011 [cited 2018 Jan 2]. www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/includes/document/document_detail.jsp?webContentId=WC500109686%26mid=WC0b01ac058009a3dc.
[80] Leth FV, Kappelhoff BS, Johnson D, Losso MH, Boron-Kaczmarska A, Saag MS, et al. Pharmacokinetic parameters of nevirapine and efavirenz in relation to antiretroviral efficacy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006;**22**:232–9.
[81] Clifford DB, Evans S, Yang Y, Acosta EP, Goodkin K, Tashima K, et al. Impact of efavirenz on neuropsychological performance and symptoms in HIV-infected individuals. *Ann Intern Med* 2005;**143**:714–21.
[82] Taburet AM. Prise en charge des personnes vivant avec le VIH. Annexe pharmacologie. 2018.
[83] Veldkamp AI, Weverling GJ, Lange JM, Montaner JS, Reiss P, Cooper DA, et al. High exposure to nevirapine in plasma is associated with an improved virological response in HIV-1-infected individuals. *AIDS* 2001;**15**:1089–95.
[84] Duong M, Buisson M, Peytavin G, Kohli E, Piroth L, Martha B, et al. Low trough plasma concentrations of nevirapine associated with virologic rebounds in HIV-infected patients who switched from protease inhibitors. *Ann Pharmacother* 2005;**39**:603–9.
[85] González de Requena D, Bonora S, Garazzino S, Sciandra M, D'Avolio A, Raiteri R, et al. Nevirapine plasma exposure affects both durability of viral suppression and selection of nevirapine primary resistance mutations in a clinical setting. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;**49**:3966–9.
[86] González de Requena D, Núñez M, Jiménez-Nácher I, Soriano V. Liver toxicity caused by nevirapine. *AIDS* 2002;**16**:290–1.
[87] De Maat MMR, Mathôt RAA, Veldkamp AI, Huitma ADR, Mulder JW, Meenhorst PL, et al. Hepatotoxicity following nevirapine-containing regimens in HIV-1-infected individuals. *Pharmacol Res* 2002;**46**:295–300.
[88] Dailly E, Billaud E, Reliquet V, Breurec S, Perré P, Léautez S, et al. No relationship between high nevirapine plasma concentration and hepatotoxicity in HIV-1-infected patients naive of antiretroviral treatment or switched from protease inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol* 2004;**60**:343–8.
[89] Kappelhoff BS, van Leth F, Robinson PA, MacGregor TR, Baraldi E, Montella F, et al. Are adverse events of nevirapine and efavirenz related to plasma concentrations? *Antivir Ther* 2005;**10**:489–98.
[90] Hall DB, Macgregor TR. Case-control exploration of relationships between early rash or liver toxicity and plasma concentrations of nevirapine and primary metabolites. *HIV Clin Trials* 2007;**8**:391–9.
[91] Kakuda TN, Wade JR, Snoeck E, Vis P, Schöller-Gyüre M, Peeters MP, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor etravirine in treatment-experienced HIV-1-infected patients. *Clin Pharmacol Ther* 2010;**88**:695–703.
[92] Brochot A, Vis P, Corbett C, Vanveggel S, Cohen C, Molina J. Generalized additive modeling of virologic response to the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors rilpivirine and efavirenz in treatment-HIV-infected patients: pooled data from ECHO and THRIVE. 13th European AIDS Conference, Belgrade, Serbia, 2011.
[93] Center for Drug Evaluation and Research. Clinical pharmacology and biopharmaceutics review, rilpivirine [Internet]. [cited 2018 Apr 18]. www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/202022Orig1s000ClinPharmR.pdf.
[94] Torti C, Quiros-Roldan E, Regazzi M, De Luca A, Mazzotta F, Antinori A, et al. A randomized controlled trial to evaluate antiretroviral salvage therapy guided by rules-based or phenotype-driven HIV-1 genotypic drug-resistance interpretation with or without concentration-controlled intervention: the Resistance and Dosage Adapted Regimens (RADAR) study. *Clin Infect Dis* 2005;**40**:1828–36.
[95] Bossi P, Peytavin G, Ait-Mohand H, Delaugerre C, Ktorza N, Paris L, et al. GENOPHAR: a randomized study of plasma drug measurements in association with genotypic resistance testing and expert advice to optimize therapy in patients failing antiretroviral therapy. *HIV Med* 2004;**5**:352–9.
[96] Kredo T, Van der Walt J-S, Siegfried N, Cohen K. Therapeutic drug monitoring of antiretrovirals for people with HIV. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(4):CD007268.
[97] Goicoechea M, Vidal A, Capparelli E, Rigby A, Kemper C, Diamond C, et al. A computer-based system to aid in the interpretation of plasma concentrations of antiretrovirals for therapeutic drug monitoring. *Antivir Ther* 2007;**12**:55–62.
[98] Fayet Mello A, Buclin T, Decosterd LA, Delhumeau C, di Iulio J, Fleurent A, et al. Successful efavirenz dose reduction guided by therapeutic drug monitoring. *Antivir Ther* 2011;**16**:189–97.
[99] Chetty M, Cain T, Wedagedera J, Rostami-Hodjegan A, Jamei M. Application of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling within a bayesian framework to identify poor metabolizers of efavirenz (PM), using a test dose of efavirenz. *Front Pharmacol* 2018;**9**:247.

Pour en savoir plus

Asqualab : www.asqualab.com.

N. Venisse (nicolas.venisse@chu-poitiers.fr).
Service de toxicologie et pharmacocinétique, CHU de Poitiers, 2, rue de la Milétrie, 86021 Poitiers, France.
CIC Inserm 1402, CHU de Poitiers, 2, rue de la Milétrie, 86021 Poitiers, France.

E. Dailly.
Service de pharmacologie clinique, Hôtel-Dieu, CHU de Nantes, 9, quai Moncousu, 44093 Nantes cedex 01, France.

Toute référence à cet article doit porter la mention : Venisse N, Dailly E. Suivi thérapeutique pharmacologique des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse du VIH. EMC - Biologie médicale 2018;13(3):1-8 [Article 90-45-0185-A].

Cryoglobulines

M.-N. Kolopp-Sarda, I. Dimet, M. Dechomet, C. Lombard

Les cryoglobulines sont des immunoglobulines (Ig) précipitant à froid in vitro, de façon réversible. La précipitation de ces Ig est liée à des modifications de leur composition en acides aminés, en acide sialique ou en résidus glycosylés et de leur structure tertiaire. Leur classification est fondée sur leurs caractéristiques immunochimiques et leur association à des pathologies. Elles sont essentielles ou, le plus fréquemment, secondaires à des pathologies immunoprolifératives, infectieuses et auto-immunes. Elles sont responsables de vascularites par obstruction de vaisseaux de petit et moyen calibres. Les principales manifestations cliniques sont des vascularites cutanées (purpura, syndrome de Raynaud), des arthralgies, des neuropathies périphériques et une insuffisance rénale. La recherche de cryoglobuline exige des conditions préanalytiques très strictes (transport et coagulation à chaud). La caractérisation et la quantification des cryoglobulines sont importantes pour confirmer un diagnostic de vascularite cryoglobulinémique et pour le suivi des traitements.

Mots-clés : Cryoglobuline ; Vascularite cryoglobulinémique ; Cryoglobuline mixte ; Cryoprécipité ; Cryoprécipitation ; Purpura ; Arthralgie ; Asthénie

Plan

Introduction

Les cryoglobulines sont des immunoglobulines (Ig) précipitant à froid in vitro, de façon réversible. Leur dépôt dans les vaisseaux de petit et moyen calibres entraîne des vascularites, en particulier au niveau de la peau, des articulations, des nerfs périphériques et des reins [1]. Wintrobe et Buell [2] sont les premiers à avoir décrit une protéine précipitant à froid dans le plasma d'une patiente souffrant d'un myélome. Le terme « cryoglobuline » a été proposé en 1947 par Lerner et Watson [3]. Meltzer et Franklin [4] ont décrit la triade purpura-arthralgie-asthénie fréquemment associée à ces cryoglobulinémies. En 1974, Brouet et al. ont proposé une classification des cryoglobulines fondée sur leurs caractéristiques immunochimiques et leur association à une pathologie [5]. Cette classification est reconnue internationalement et reste d'actualité.

Les cryoglobulines et leurs propriétés cryoprécipitantes sont définies dans cet article. Puis les méthodes d'analyse des cryoglobulines sont décrites. Dans une dernière partie, sont abordées les manifestations cliniques liées à leur présence.

Classification des cryoglobulines

La classification de Brouet et al. distingue trois types de cryoglobulines [5] :

- les cryoglobulines de type I sont constituées d'une Ig monoclonale de type IgM et IgG. Les IgA monoclonales cryoprécipitantes sont rarement décrites dans la littérature [4, 6–12]. Les auteurs n'en ont jamais détecté dans leur laboratoire, bien qu'ils suivent une large cohorte de patients atteints de maladies hématologiques. Les cryoglobulines de type I sont secondaires à des pathologies immunoprolifératives : gammapathie monoclonale de signification indéterminée ou de signification clinique, macroglobulinémie de Waldenström, myélome multiple, leucémie lymphoïde chronique, lymphome, etc. ;
- les cryoglobulines de type II associent une Ig monoclonale et des Ig polyclonales. Toutes les possibilités d'association d'IgM, IgG et IgA, kappa et lambda sont retrouvées. Les plus fréquemment décrites associent une IgM kappa monoclonale et des IgG polyclonales ;
- les cryoglobulines de type III associent des immunoglobulines polyclonales de type IgM, IgG et IgA.

Les cryoglobulines de types II et III sont également appelées cryoglobulines mixtes. Elles peuvent être essentielles (ou primaires) ou secondaires à des infections virales (virus de l'hépatite C [VHC], virus de l'hépatite B [VHB], virus de l'immunodéficience humaine [VIH]), bactériennes et parasitaires, des maladies auto-immunes telles que le syndrome de Gougerot-Sjögren (ou

Volume 13 > n°3 > juillet 2018
http://dx.doi.org/10.1016/S2211-9698(18)75703-8

syndrome sec), le lupus érythémateux systémique et la polyarthrite rhumatoïde. Les cryoglobulines mixtes peuvent être transitoires lors d'infections aiguës.

Phénomènes de cryoprécipitation

De nombreuses conditions physiques et chimiques peuvent influencer la précipitation au froid in vitro des Ig : certaines conditions sont liées aux molécules d'Ig elles-mêmes et d'autres à leur environnement.

Cryoglobulines de type I

La précipitation des cryoglobulines de type I est liée à la formation d'agrégats d'Ig monoclonales et non à la formation de complexes immuns. Cette agrégation est due à des modifications de structure primaire et secondaire des Ig (composition et séquence d'acides aminés [13–16], teneur en acide sialique et carbohydrate [17]), et de structure tertiaire avec disposition de résidus hydrophobiques à l'extérieur de la molécule [18, 19]. Ces modifications sont responsables d'une diminution de la solubilité des molécules et de la formation de liaisons faibles, de type liaison hydrogène, hydrophobe ou électrostatique, entre Ig monoclonales. La taille de ces agrégats et leur dépôt dans les vaisseaux de petit et moyen calibres va varier en fonction de la température et de la concentration en cryoglobuline. Il a été mis en évidence in vitro que plus la concentration de cryoglobuline est élevée, plus sa température de précipitation est élevée [20]. Cela expliquerait les signes rénaux : la filtration glomérulaire concentre les protéines sanguines favorisant le dépôt des cryoglobulines. D'autres conditions peuvent modifier la solubilité des cryoglobulines telles que la force ionique et le pH du milieu : la précipitation est favorisée par une faible force ionique et un pH neutre, ce phénomène est réversible et température-dépendant [13, 20–22].

Cryoglobulines mixtes

Pour les cryoglobulines mixtes, la formation de complexes immuns favorisée par le froid est responsable d'inflammation des vaisseaux de petit et moyen calibres. Ces complexes immuns sont formés par une Ig ayant une activité du facteur rhumatoïde (FR), le plus souvent une IgM monoclonale dirigée contre des IgG polyclonales [5]. Ces complexes immuns sont d'autant plus volumineux que la température diminue [23] et ce serait préférentiellement l'IgM qui aurait des propriétés cryoprécipitantes par modification de sa structure [10, 24]. Des IgA monoclonales ou polyclonales peuvent être retrouvées dans ces complexes immuns comme un élément minoritaire. Comme pour les cryoglobulines de type I, la précipitation in vitro des cryoglobulines mixtes est inhibée par l'élévation de la force ionique du milieu et par un pH extrême [10]. Ces caractéristiques physicochimiques mises en évidence in vitro, confirment l'existence de liaisons faibles entre les IgM et les IgG favorisant l'augmentation de taille des complexes immuns à basse température [23, 24].

Méthodes d'analyse

Du fait de leurs propriétés physicochimiques, la détection des cryoglobulines est un examen délicat exigeant une phase préanalytique stricte et indispensable à la bonne réalisation de cette recherche.

Conditions préanalytiques

La température de précipitation in vitro des cryoglobulines est éminemment variable d'un patient à un autre et en fonction du type de cryoglobuline. Il en résulte qu'une extrême rigueur s'impose quant à la qualité du prélèvement, de son acheminement au laboratoire et de sa prise en charge à l'intérieur de celui-ci, l'objectif étant de ne pas rompre la chaîne du chaud, du prélèvement à la décantation [25, 26].

Le prélèvement doit être réalisé chez le patient à jeun de graisse (minimum quatre heures), les lipides pouvant gêner la détection d'un cryoprécipité. Quinze à 20 ml de sang doivent être prélevés sur des tubes secs sans gel, afin d'obtenir un volume minimal de 4 à 5 ml de sérum. Les tubes à gel sont à proscrire, les cryoglobulines pouvant s'adsorber sur le gel et ne pas être retrouvées dans le sérum (expérience personnelle). De même, les tubes avec anticoagulant complexant le calcium (Ca) sont à proscrire (acide éthylène diamine tétra-acétique [EDTA], citrate), certaines cryoglobulines ont besoin de Ca pour précipiter [27]. Le prélèvement est ensuite mis à l'étuve à 37 ± 2 °C pour coaguler à chaud pendant un minimum de deux heures, avant tout transport vers le laboratoire effectuant la recherche pour que la cryoglobuline ne précipite pas avant la formation du caillot et reste dans le sérum. Si la recherche n'est pas réalisée sur place, les prélèvements, après coagulation à chaud, sont transportés dans des dispositifs permettant de maintenir la température aux alentours de 37 °C (32-38 °C) tels que des bouteilles thermos remplies de sable chauffé, préférentiellement à de l'eau chauffée à 37 °C, ou un caisson de transport isolé et des blocs thermiques (TRANS control 37 °C, Sarstedt® par exemple). Dans les cas où la transmission des prélèvements est longue ou compliquée (laboratoires éloignés), une autre alternative est de décanter le sérum après coagulation à chaud (cf. infra) et de l'envoyer à froid ou à température ambiante au laboratoire effectuant la recherche de cryoglobuline.

Aspects analytiques

Détection d'un cryoprécipité

Une fois le sang coagulé, les tubes sont centrifugés 15 min à 2200 g, dans une centrifugeuse thermostatée à 37 °C ou dans une centrifugeuse non thermostatée après l'avoir fait tourner à vide pendant 30 min pour augmenter la température dans la cuve. Le sérum est ensuite décanté dans un tube à fond conique de préférence, facilitant l'observation d'un précipité. Un aliquot de 500 μl de sérum peut être préparé pour confirmer la dissolution d'un précipité à 37 °C, mais également pour réaliser des analyses complémentaires dans les bonnes conditions de prélèvement (électrophorèse, exploration du complément, FR, etc.).

Les sérums sont ensuite placés à +4 °C (+2-8 °C) pendant sept jours [28]. Le délai de précipitation varie en fonction du type de cryoglobuline, il peut être de quelques heures (cryoglobulines en grande quantité, de type I et quelques type II) ou de plusieurs jours (cryoglobulines mixtes). Un délai de sept jours est nécessaire et suffisant pour précipiter toute la cryoglobuline [28, 29], cela est important pour sa quantification.

La détection du cryoprécipité est réalisée par observation visuelle du sérum après sept jours. Il peut se présenter sous différentes formes : trouble dans le sérum, précipité blanc de volume et d'aspect variable au fond du tube (Fig. 1A, B), précipité formant de fines volutes quand il est délicatement remis en suspension, précipité floconneux ou fines granulations au sein du sérum (Fig. 1C, D), formation d'un cryogel (Fig. 1E) pouvant se traduire par une prise en masse du sérum. La présence de lipides peut gêner la détection d'un précipité, une centrifugation de l'échantillon permet de différencier cryoprécipité se déposant au fond du tube et lipides restant à la surface. Si cette interférence est trop gênante, un nouveau prélèvement à jeun doit être demandé. Du fait des conditions préanalytiques strictes et difficiles, il est préférable, dans le cas d'une recherche négative, de répéter la recherche deux fois pour confirmer l'absence de cryoglobuline chez le patient [30].

La mise en évidence d'un cryoprécipité doit être confirmée par son identification et sa quantification.

Isolement et purification du cryoprécipité

Toutes les étapes suivantes sont réalisées à froid : centrifugation et réactifs conservés à +4 °C (+2-8 °C). Si la température ambiante est élevée, il faut travailler avec les tubes mis dans la glace.

Le cryoprécipité est isolé par centrifugation du sérum (15 min à 2200 g, +2-8 °C). Il est essentiel à cette étape de relever le volume exact du sérum dans lequel est isolé le cryoprécipité, afin de rapporter les résultats finaux de dosage des cryoglobulines au

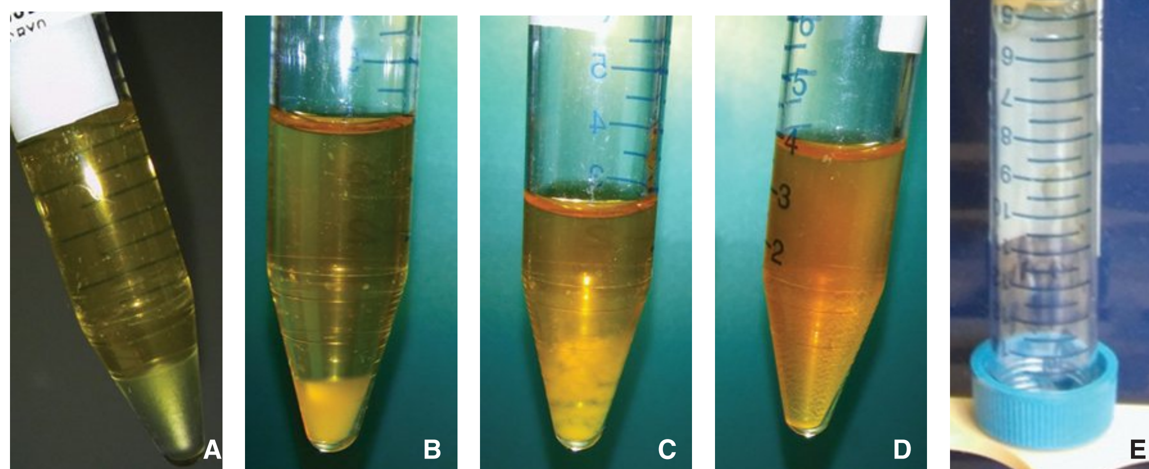


Figure 1. Différents aspects de cryoprécipité dans le sérum placé sept jours à +2-8 °C.
A, B. Précipité d'aspect variable au fond du tube.
C. Précipité floconeux.
D. Précipité sous forme de fines granulations.
E. Cryogel.

volume initial de sérum. Le culot obtenu est ensuite lavé trois fois dans du tampon phosphate froid (*phosphate buffered saline* [PBS] ; pH = 7,4 ; +2-8 °C) et centrifugé (15 min à 4500 g ; +2-8 °C) afin d'éliminer le sérum contenant des Ig non cryoprécipitantes et d'autres protéines sériques [28, 29]. Le précipité lavé est ensuite remis en suspension dans 500 µl de PBS ou plus, en fonction du volume du cryoprécipité. L'ajout de Fluidil® 2 % (Sebia, Lisses, France) et le mélange par vortex de la suspension favorisent la dissolution du précipité. Cette suspension est remise à chaud pendant un minimum de deux heures pour dissoudre le cryoprécipité et réaliser les analyses ultérieures [25, 26].

Caractérisation et quantification des cryoglobulines

La classification des cryoglobulines prend en compte leurs caractéristiques immunochimiques, isotype d'Ig et clonalité [5]. Cette caractérisation est réalisée sur le cryoprécipité purifié et dissous à l'étuve, comme décrit dans l'étape précédente. L'immunofixation est la technique la plus simple à réaliser et la plus sûre pour déterminer le type d'Ig (IgG, IgA, IgM, kappa et lambda) ainsi que la monoclonalité (une bande bien nette avec un antisérum anti-chaîne lourde γ, α ou µ au même niveau qu'une bande avec un anti-sérum anti-chaîne légère κ ou λ) ou la polyclonalité (aspect homogène étalé dans la zone des gammaglobulines) (Fig. 2). Cette technique permet également de vérifier la pureté du cryoprécipité en contrôlant l'absence d'albumine : réalisation d'une piste témoin révélée par un antisérum total ou un fixateur de protéines de type acide sulfosalicylique/trichloracétique par exemple. Les cryoglobulines peuvent entraîner d'autres protéines favorisant leur précipitation, telles que fibronectine, facteurs du complément, etc.

L'étape suivante est la quantification des Ig identifiées dans le cryoprécipité. Elle peut être effectuée par immunoprécipitation en milieu liquide (turbidimétrie ou néphélémétrie) avec des réactifs permettant des dosages de faible concentration d'Ig. Dans le laboratoire des auteurs, elle est réalisée par immunonéphélémétrie (BNProSpec®, Siemens, Allemagne, réactifs pour faibles concentrations). La quantification du cryoprécipité peut également être effectuée en dosant les Ig totales en spectrophotométrie (mesure de l'absorbance à 280 nm, lecture de densité optique avec le coefficient des Ig de 1,414). Le dosage des protéines totales est à éviter car, en cas de mauvaise purification, d'autres protéines non cryoprécipitantes peuvent être quantifiées. La mesure du cryocrite, estimation du volume de cryoprécipité mesuré dans un tube de sédimentation gradué à fond conique (tube de Wintrobe) après centrifugation, est peu sensible et peu reproductible et n'est plus recommandée [29]. La concentration d'Ig dans le cryoprécipité, repris dans un volume connu de PBS (500 µl ou plus), doit être rapportée au volume initial de sérum à partir duquel la cryoglobuline a été isolée, les résultats sont rendus en gramme ou milligramme par litre de sérum.

Dans la Figure 3, sont proposées les étapes de recherche et caractérisation d'une cryoglobuline fondées sur la littérature [28, 29] et la propre expérience des auteurs [25, 26]. Combiner une immunofixation pour définir le type et la nature des cryoglobulines et la quantification des Ig dans le cryoprécipité est l'approche la plus spécifique et la plus sensible pour confirmer le diagnostic de cryoglobulinémie [28, 29, 31, 32]. Vermeersch et al. rapportent des concentrations de cryoglobuline chez des sujets sains VHC négatifs inférieures à 10 mg/l d'Ig [32]. Une limite de concentration en cryoglobuline supérieure à 20 mg/l est considérée, dans le laboratoire des auteurs, comme seuil significatif de positivité.

Analyses complémentaires dans le cryoprécipité et le sérum

Les cryoglobulines mixtes ont fréquemment une activité FR, liée à une IgM anti-IgG, IgM monoclonale dans les types II ou polyclonales dans les types III. Cette activité peut être mesurée par immunonéphélémétrie, dans le cryoprécipité et dans le sérum.

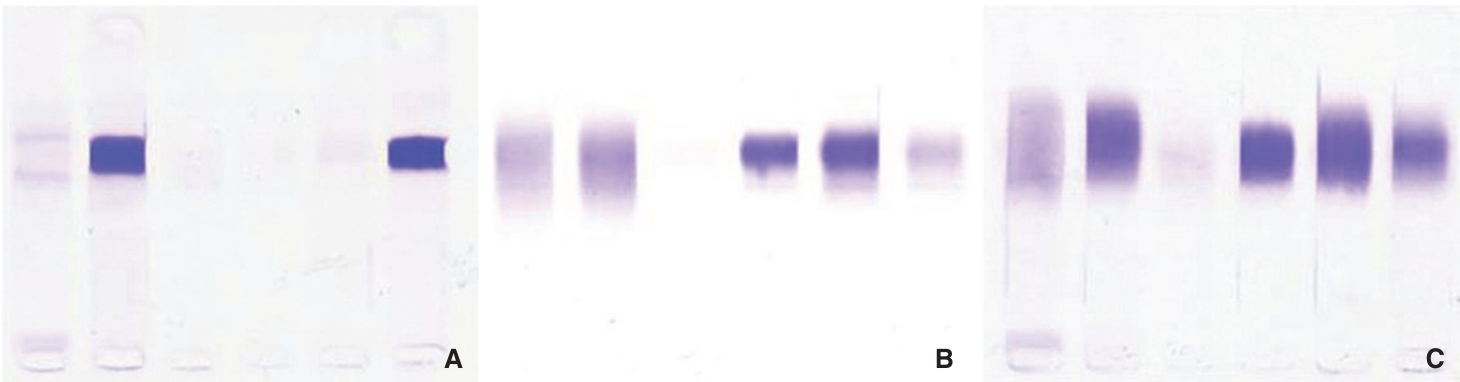


Figure 2. Caractérisation de cryoprécipités par immunofixation. AST : antisérum total ; G : anticorps anti-chaîne lourde γ ; A : anticorps anti-chaîne lourde α ; M : anticorps anti-chaîne lourde μ ; K : anticorps anti-chaîne légère κ ; L : anticorps anti-chaîne légère λ.
A. Cryoglobuline de type I (IgG λ).
B. Cryoglobuline de type II (IgMκ et IgG polyclonales).
C. Cryoglobuline de type III (IgG et IgM polyclonales).

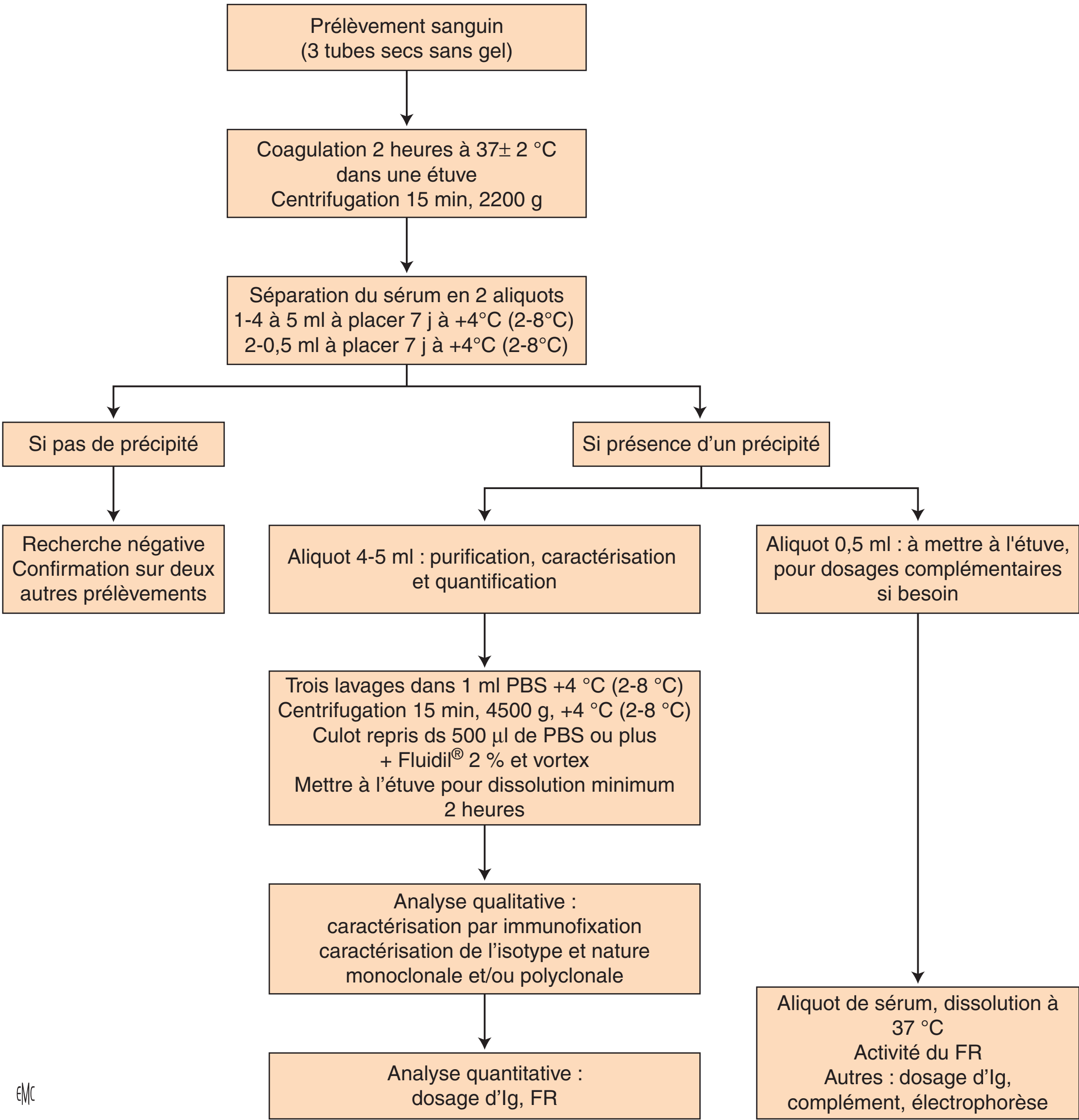


Figure 3. Logigramme de recherche et caractérisation d'une cryoglobuline. PBS : *phosphate buffered saline* ; Ig : immunoglobulines ; FR : facteur rhumatoïde.

La mesure de l'activité du FR dans le cryoprécipité dissous est intéressant pour mieux définir les cryoglobulines : une cryoglobuline avec une activité du FR est plus apte à former des complexes immuns et à contribuer à la physiopathologie des vascularites [33].

L'exploration du complément (activité fonctionnelle du complément hémolytique 50 [CH50], dosage des fractions C3 et C4) permet également de mieux approcher l'activité de la cryoglobuline. L'hypocomplémentémie concerne les fractions C1q,

Tableau 1.
Approche diagnostique d'une cryoglobulinémie et interférences biologiques.

Contexte clinique	Important : des sujets sains peuvent avoir une cryoglobuline de concentration faible [30] Vascularite cutanée, phénomène de Raynaud, neuropathie périphérique, arthralgie-fatigue-purpura (triade de Meltzer)	
Détection de cryoglobuline	Conditions préanalytiques strictes : prélèvement et transport du sang ∼ 37 °C	Si recherche négative : doit être confirmée par deux autres recherches négatives Si recherche positive : voir ci-après
→ En cas de recherche positive d'une cryoglobuline	Dans le cryoprécipité après purification	*Typage* : pour la recherche de la maladie sous-jacente *Quantification* : pour évaluer le risque de vascularite, pour suivre l'évolution et la réponse au traitement *Activité FR* : pour confirmer le risque de précipitation pour les cryoglobulines mixtes
	Dans le sérum	Exploration du complément : C3 Nl, C4↓, CH50 Nl ou ↓ FR, dans les bonnes conditions de prélèvement
	Biopsie rénale ou cutanée si besoin	Vascularite leucocytoclasique Glomérulonéphrite membranoproliférative de type 1
	Diagnostic de la maladie sous-jacente	*Cryoglobuline de type I* : pathologies lymphoprolifératives : GMSI, maladie de Waldenström, myélome, LLC, lymphome, etc. *Cryoglobulines mixtes de type II ou III* : – maladies infectieuses : associées fréquemment avec VHC, ou VHB, VIH, infections bactériennes et parasitaires, peuvent être transitoires dans les infections non chroniques – maladies auto-immunes : syndrome sec (Gougerot-Sjögren), lupus érythémateux systémique, polyarthrite rhumatoïde – possibilité de pathologie lymphoproliférative si l'IgM monoclonale cryoprécipitante à une activité du FR, souvent dans les maladies de Waldenström *Pas de mise en évidence de pathologie sous-jacente* : cryoglobuline essentielle/primaire
Interférences biologiques associées à la présence d'une cryoglobuline	*Interférences avec l'hémogramme* : leucocytose, thrombocytose *Sérum gélifié* : empêche le prélèvement de sérum/plasma dans les automates *Dosages en néphélométrie ou turbidimétrie* : complexes immuns liés à la présence d'un FR : précipitation non spécifique *Précipitation des Ig au froid* : – fausse hypo-gamma-globulinémie et hypoprotéinémie – diminution/disparition du pic monoclonal sur l'électrophorèse – risque de non-détection d'anticorps spécifiques (auto-immunité, etc.)	

Ig : immunoglobulines ; CH50 : complément hémolytique 50 ; FR : facteur rhumatoïde ; GMSI : gammapathie monoclonale de signification indéterminée ; LLC : leucémie lymphoïde chronique ; VHC : virus de l'hépatite C ; VHB : virus de l'hépatite B ; VIH : virus de immunodéficience humaine.

C2 et C4, la fraction C3 est normale, le CH50 est normal ou abaissé en fonction de la concentration en C4, les fractions post-C5 sont normales [33–36]. Ce profil est retrouvé chez 61 % des patients avec cryoglobuline de type II et 55 % avec cryoglobuline de type III, comparé à 16 % de patients avec recherche de cryoglobuline négative [32]. La diminution de ces fractions peut résulter de leur fixation in vivo au sein des complexes immuns ou des agrégats d'Ig monoclonales plutôt que leur consommation par activation de la voie classique [37]. Néanmoins, il est possible de retrouver une consommation du complément correspondant à une activation de la voie classique (diminution des fractions C3, C4 et diminution du CH50), en particulier chez des patients ayant une cryoglobuline mixte.

Aspects cliniques

Approche diagnostique et suivi biologique

Dans le Tableau 1, une approche diagnostique des cryoglobulinémies est proposée en abordant le problème des interférences biologiques liées aux cryoglobulines et à leur activité. La présence d'une cryoglobuline doit être surveillée régulièrement, en particulier les cryoglobulines mixtes constituées d'une Ig monoclonale. Même en faible quantité, leur présence est le signe de la stimulation d'un clone de lymphocytes B, pouvant évoluer en lymphome B, en particulier dans les infections à VHC et les syndromes de Gougerot-Sjögren [38–40].

Manifestations cliniques des cryoglobulines

La présence de cryoglobuline peut passer inaperçue comme elle peut se manifester par des formes cliniques sévères mettant en jeu le pronostic vital de certains organes. Les signes généraux de cryoglobulinémie ont été décrits par Meltzer et Franklin, se traduisant par la triade arthralgie-purpura-asthénie [4]. La vascularite est le principal symptôme des cryoglobulinémies, touchant la peau, les articulations et les nerfs périphériques. Elle est liée à l'obstruction des vaisseaux de petit et moyen calibres par les agrégats de cryoglobulines de type I ou les complexes immuns formés par les cryoglobulines mixtes. Ces vascularites touchent plus fréquemment la peau et les extrémités, du fait de la température cutanée, dans des conditions normales d'air et d'humidité, d'environ 28-30 versus 37 °C dans l'organisme. Elles se traduisent par un purpura intermittent, siégeant plutôt aux membres inférieurs, souvent déclenché par le froid. Les lésions régressent spontanément, laissant des taches cicatricielles sur la peau (dépôts d'hémosidérine). Le purpura peut être accompagné d'un syndrome de Raynaud atteignant les mains, les pieds, les oreilles, etc. [1, 41, 42]. Ces vascularites peuvent se traduire également par un livedo, des ulcères et des nécroses, en particulier au niveau des malléoles (dépôt dans des vaisseaux de moyen calibre), lésions plus fréquemment décrites dans le cas de cryoglobulines de type I [43–46]. Les arthralgies touchent les articulations des mains, les genoux et les hanches. Les neuropathies périphériques sont décrites chez 30 à 50 % des patients [1], se traduisant par des paresthésies et des douleurs, le plus souvent des membres inférieurs. Des atteintes rénales de type glomérulonéphrite membranoproliférative de type 1 sont retrouvées chez 10 à 30 % des patients, pouvant évoluer jusqu'à une insuffisance rénale aiguë ou chronique après plusieurs années [43–49]. D'autres organes peuvent être atteints tels que les poumons (hémorragie intra-alvéolaire) et l'intestin. Les douleurs intestinales, signe d'une vascularite intestinale, sont des signes tardifs d'évolution grave des cryoglobulinémies.

L'association cryoglobuline mixte et infection VHC a été décrite suite à la découverte du VHC en 1989 ; de nombreuses cryoglobulines classées « essentielles » se sont révélées être secondaires à cette infection chronique [38]. Chez les patients VHC positifs ayant une vascularite cryoglobulinémique (5 à 10 % des patients avec cryoglobuline mixte), les complications extra-hépatiques sont plus fréquentes. L'évolution vers un lymphome B, un cancer de la thyroïde ou un hépatocarcinome concerne 15 % de ces patients [50]. Une thérapeutique immunosuppressive anti-CD20 (rituximab) a été ajoutée aux traitements antiviraux (interféron et ribavirine), sans disparition totale de la cryoglobuline [51, 52]. En revanche, les nouvelles thérapeutiques antivirales ont montré leur effet non seulement sur l'infection virale mais également sur la rémission de la vascularite cryoglobulinémique avec une négativation de la cryoglobuline, confirmant le lien entre la réponse chronique au virus et la cryoglobulinémie [53, 54].

■ Conclusion

Les cryoglobulines sont responsables de vascularites des vaisseaux de petit et moyen calibres. Leur dépôt sous la forme d'agrégats de cryoglobulines monoclonales ou de complexes immuns est favorisé par le froid. Du fait de leur précipitation à froid, leur détection est liée au respect strict des conditions préanalytiques, dont la coagulation et le transport à ∼37 °C. La caractérisation et la quantification des cryoglobulines sont importantes pour confirmer le diagnostic de vascularite cryoglobulinémique et pour suivre l'efficacité des traitements.

“ Points essentiels

- Les cryoglobulines sont des immunoglobulines précipitant à froid.
- Elles sont classées en trois types en fonction de leurs caractéristiques immunochimiques.
- Elles sont fréquemment secondaires à des pathologies immunoprolifératives, infectieuses ou auto-immunes.
- Leur détection dépend de conditions préanalytiques strictes.
- Leur caractérisation et leur quantification sont importantes pour le diagnostic de vascularites cryoglobulinémiques.

Déclaration de liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.



■ Références

[1] Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X. The cryoglobulinaemias. *Lancet* 2012;**379**:348–60.

[2] Wintrobe M, Buell M. Hyperproteinemia associated with multiple myeloma. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1933;**52**:156–65.

[3] Lerner AB, Watson CJ. Studies of cryoglobulins; unusual purpura associated with the presence of a high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). *Am J Med Sci* 1947;**214**:410–5.

[4] Meltzer M, Franklin EC. Cryoglobulinemia–a study of twenty-nine patients. I. IgG and IgM cryoglobulins and factors affecting cryoprecipitability. *Am J Med* 1966;**40**:828–36.

[5] Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *Am J Med* 1974;**57**:775–88.

[6] Auscher C, Guinand S. Investigation of a cryo-precipitable beta2A-globulin. *Clin Chim Acta* 1964;**9**:40–8.

[7] Somer T. The viscosity of blood, plasma and serum in dys- and paraproteinemias. *Acta Med Scand Suppl* 1966;**456**:1–97.

[8] Slavin RG, Suriano JR, Dreesman G. Studies on cryogelglobulinemia associated with IgA myeloma proteins. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1971;**40**:739–48.

[9] Dine ME, Guay AT, Snyder LM. Hyperviscosity syndrome with IgA myeloma. *Am J Med Sci* 1972;**264**:111–5.

[10] Klein M, Danon F, Brouet JC, Signoret Y, Seligmann M. Immunochemical study of 130 human cryoglobulins. *Eur J Clin Biol Res* 1972;**17**:948–57.

[11] Pruzanski W, Jancelewicz Z, Underdown B. Immunological and physicochemical studies of IgA1(γ) cryogelglobulinaemia. *Clin Exp Immunol* 1973;**15**:181–91.

[12] Yamaguchi N, Kawai K, Kagami K, Aki H, Kano T. A case of idiopathic monoclonal IgA cryoglobulinemia (author's transl). *Jpn Soc Intern Med* 1977;**66**:414–21.

[13] Konieczny L, Bobrzecka K. Agreggation and precipitation in cryoglobulin. *Bull Soc Chim Biol* 1970;**52**:365–76.

[14] Zinneman HH, Fromke VL, Seal US. Some biochemical properties of a cryomacroglobulin. *Clin Chim Acta* 1973;**43**:91–9.

[15] Middaugh CR, Gerber-Jenson B, Hurvitz A, Paluszek A, Scheffel C, Litman GW. Physicochemical characterization of six monoclonal cryoimmunoglobulins: possible basis for cold-dependent insolubility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978;**75**:3440–4.

[16] Litman GW, Scheffel C, Gerber-Jenson B, Litman R, Middaugh CR. Molecular basis for the temperature-dependent insolubility of cryoglobulins. XII. Anomalous mobility of monoclonal cryoimmunoglobulin heavy chains accompanying polyacrylamide gel electrophoresis in sodium dodecyl sulfate. *Immunol Commun* 1981;**10**:707–18.

[17] Kuroda Y, Kuroki A, Kikuchi S, Funase T, Nakata M, Izui S. A critical role for sialylation in cryoglobulin activity of murine IgG3 monoclonal antibodies. *J Immunol* 2005;**175**:1056–61.

[18] Erickson BW, Gerber-Jenson B, Wang AC, Litman GW. Molecular basis for the temperature-dependent insolubility of cryoglobulins–XI. Sequence comparison of the heavy-chain variable regions of the human cryoimmunoglobulins McE and Hil by metric analysis. *Mol Immunol* 1982;**19**:357–65.

[19] Gerber-Jenson B, Kazin A, Kehoe JM, Scheffel C, Erickson BW, Litman GW. Molecular basis for the temperature-dependent insolubility of cryoglobulins. X. The amino acid sequence of the heavy chain variable region of McE. *J Immunol* 1981;**126**:1212–6.

[20] Nishimura Y, Nakamura H. Human monoclonal cryoimmunoglobulins. I. Molecular properties of IgG3 kappa (Jir protein) and the cryocoprecipitability of its molecular fragments by papain. *J Biochem* 1984;**95**:255–65.

[21] Zinneman HH, Levi D, Seal US. On the nature of cryoglobulins. *J Immunol* 1968;**100**:594–603.

[22] Andersen BR, Tesar JT, Schmid FR, Haisty WK, Hartz WH. Biological and physical properties of a human m-cryoglobulin and its monomer subunit. *Clin Exp Immunol* 1971;**9**:795–807.

[23] Brandau DT, Trautman PA, Steadman BL, Lawson EQ, Middaugh CR. The temperature-dependent stoichiometry of mixed cryoimmunoglobulins. *J Biol Chem* 1986;**261**:16385–91.

[24] Lawson EQ, Brandau DT, Trautman PA, Middaugh CR. Electrostatic properties of cryoimmunoglobulins. *J Immunol* 1988;**140**:1218–22.

[25] Kolopp-Sarda MN, Miossec P. Cryoglobulins: an update on detection, mechanisms and clinical contribution. *Autoimmun Rev* 2018;**17**:457–64.

[26] Kolopp-Sarda M, Chapuis-Cellier C, Dimet I, Lombard C. Cryoprecipitating proteins in pathology: cryoglobulin and cryofibrinogen. *Rev Fr Lab* 2012;**444**:53–62.

[27] Qi M, Steiger G, Schifferli JA. A calcium-dependent cryoglobulin IgM kappa/polyclonal IgG. *J Immunol* 1992;**149**:2345–51.

[28] Vermeersch P, Gijbels K, Marien G, Lunn R, Egner W, White P, et al. A critical appraisal of current practice in the detection, analysis, and reporting of cryoglobulins. *Clin Chem* 2008;**54**:39–43.

[29] Sargur R, White P, Egner W. Cryoglobulin evaluation: best practice? *Ann Clin Biochem* 2009;**47**:8–16.

[30] Le Hello C, Généreau T, Lortholary O, Cohen P, Guillevin L. Les cryoglobulinémies : stratégie diagnostique. *Sang Thromb Vaiss* 1996;**8**:611–6.

[31] Shihabi ZK. Cryoglobulins: an important but neglected clinical test. *Ann Clin Lab Sci* 2006;**36**:395–408.

[32] Vermeersch P, Gijbels K, Knockaert D, Blockmans D, Westhovens R, Mariën G, et al. Establishment of reference values for immunoglobulins in the cryoprecipitate. *Clin Immunol* 2008;**129**:360–4.

[33] De Rosa FG, Agnello V. Observations on cryoglobulin testing: I. The association of cryoglobulins containing Rheumatoid factors with manifestation of cryoglobulinemic vasculitis. *J Rheumatol* 2009;**36**:1953–5.

[34] Rother U, Rother K, Flad HD, Miescher PA. Bithermic complement activation in cryoglobulinaemic serum. *Eur J Clin Invest* 1972;**2**:59–65.
[35] Linscott WD, Kane JP. The complement system in cryoglobulinaemia. Interaction with immunoglobulins and lipoproteins. *Clin Exp Immunol* 1975;**21**:510–9.
[36] Naish PF, Collins C, Barratt J. Classical pathway complement activation in association with paraproteinaemia. *Immunology* 1977;**33**:517–21.
[37] Tarantino A, Anelli A, Costantino A, De Vecchi A, Monti G, Massaro L. Serum complement pattern in essential mixed cryoglobulinaemia. *Clin Exp Immunol* 1978;**32**:77–85.
[38] Dammacco F, Racanelli V, Russi S, Sansonno D. The expanding spectrum of HCV-related cryoglobulinemic vasculitis: a narrative review. *Clin Exp Med* 2016;**16**:233–42.
[39] Ferri C, Antonelli A, Mascia MT, Sebastiani M, Fallahi P, Ferrari D, et al. B-cells and mixed cryoglobulinemia. *Autoimmun Rev* 2007;**7**:114–20.
[40] Quartuccio L, Isola M, Baldini C, Priori R, Bartoloni E, Carubbi F, et al. Clinical and biological differences between cryoglobulinaemic and hypergammaglobulinaemic purpura in primary Sjögren's syndrome: results of a large multicentre study. *Scand J Rheumatol* 2015;**44**: 36–41.
[41] Bryce AH, Kyle RA, Dispenzieri A, Gertz MA. Natural history and therapy of 66 patients with mixed cryoglobulinemia. *Am J Hematol* 2006;**81**:511–8.
[42] Dammacco F, Sansonno D, Piccoli C, Tucci FA, Racanelli V. The cryoglobulins: an overview. *Eur J Clin Invest* 2001;**31**:628–38.
[43] Terrier B, Karras A, Kahn JE, Le Guenno G, Marie I, Benarous L, et al. The spectrum of type I cryoglobulinemia vasculitis: new insights based on 64 cases. *Medicine* 2013;**92**:61–8.
[44] Néel A, Perrin F, Decaux O, Dejoie T, Tessoulin B, Halliez M, et al. Long-term outcome of monoclonal (type 1) cryoglobulinemia. *Am J Hematol* 2014;**89**:156–61.
[45] Harel S, Mohr M, Jahn I, Aucouturier F, Galicier L, Asli B, et al. Clinico-biological characteristics and treatment of type I monoclonal cryoglobulinaemia: a study of 64 cases. *Br J Haematol* 2015;**168**:671–8.
[46] Sidana S, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, et al. Clinical presentation and outcomes of patients with type 1 monoclonal cryoglobulinemia. *Am J Hematol* 2017;**92**:668–73.
[47] Zaidan M, Terrier B, Pozdzik A, Frouget T, Rioux-Leclercq N, Combe C, et al. Spectrum and prognosis of noninfectious renal mixed cryoglobulinemic GN. *J Am Soc Nephrol* 2016;**27**:1213–24.
[48] Beddhu S, Bastacky S, Johnson JP. The clinical and morphologic spectrum of renal cryoglobulinemia. *Medicine* 2002;**81**:398–409.
[49] Matignon M, Cacoub P, Colombat M, Saadoun D, Brocheriou I, Mougenot B, et al. Clinical and morphologic spectrum of renal involvement in patients with mixed cryoglobulinemia without evidence of hepatitis C virus infection. *Medicine* 2009;**88**:341–8.
[50] Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, Cazzato M, Longombardo G, Antonelli A, et al. Mixed cryoglobulinemia: demographic, clinical, and serologic features and survival in 231 patients. *Semin Arthritis Rheum* 2004;**33**:355–74.
[51] Saadoun D, Resche Rigon M, Sene D, Terrier B, Karras A, Perard L, et al. Rituximab plus Peg-interferon-alpha/ribavirin compared with Peg-interferon-alpha/ribavirin in hepatitis C-related mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2010;**116**:326–34, quiz 504-505.
[52] Dammacco F, Sansonno D. Therapy for hepatitis C virus-related cryoglobulinemic vasculitis. *N Engl J Med* 2013;**369**:1035–45.
[53] Gragnani L, Visentini M, Fognani E, Urraro T, De Santis A, Petraccia L, et al. Prospective study of guideline-tailored therapy with direct-acting antivirals for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia. *Hepatology* 2016;**64**:1473–82.
[54] Saadoun D, Pol S, Ferfar Y, Alric L, Hezode C, Si Ahmed SN, et al. Efficacy and safety of sofosbuvir plus daclatasvir for treatment of HCV-associated cryoglobulinemia vasculitis. *Gastroenterology* 2017;**153**, 49-52.e5.

M.-N. Kolopp-Sarda (marie-nathalie.sarda@chu-lyon.fr).
Laboratoire d'immunologie, Centre de biologie, Centre hospitalier Lyon Sud, 165, chemin du Grand-Revoyet, 69495 Pierre-Bénite cedex, France.
EA4130 Immunogénomique et inflammation, Hospices civils de Lyon et Université Claude-Bernard Lyon-1, 69003 Lyon, France.

I. Dimet.
M. Dechomet.
C. Lombard.
Laboratoire d'immunologie, Centre de biologie, Centre hospitalier Lyon Sud, 165, chemin du Grand-Revoyet, 69495 Pierre-Bénite cedex, France.

Toute référence à cet article doit porter la mention : Kolopp-Sarda MN, Dimet I, Dechomet M, Lombard C. Cryoglobulines. EMC - Biologie médicale 2018;13(3):1-7 [Article 90-30-0170-A].